

## INDAGINI PRELIMINARI SULL'ESPRESSIONE IMMUNOISTOCHEMICA DELLA PROTEINA P53 NEL SEMINOMA DEL CANE

### PRELIMINARY INVESTIGATIONS ABOUT IMMUNOHISTOCHEMICAL EXPRESSION OF P53 PROTEIN IN SEMINOMA OF THE DOG

Mariotti F., Vitellozzi G.\*

(*Pat. Gen. e Anat. Patol. Vet., Camerino - \*Istituto di Pat. Gen. e Anat. Patol. Vet., Perugia*)

**Parole chiave:** cane, apparato riproduttore, immunoistochimica, p53 nel seminoma

**Key words:** dog, reproductive system, immunohistochemistry, p53 in seminoma

**SUMMARY** - The p53 protein is a transcription factor inducing cell cycle arrest and apoptosis against a DNA damage. p53 mutations might lead to lose its inhibiting growth functions and contribute to not controlled cellular proliferation. Mutations and/or overexpression of p53 are the most common genetic alterations found in human cancer. The role of the p53 protein in cancerogenesis in domestic animals is still largely unknown. This preliminary study investigates the expression of p53 in 16 seminomas of the dog using a standard streptavidin-biotin peroxidase method after microwave antigen retrieval. In 9 diffuse seminomas the intensity of p53 expression is of low degree (+), in 5 diffuse seminomas is of middle degree (++) and in 2 intratubular seminomas is of high degree (+++). The results suggest the p53 expression in seminoma of the dog decreases with advancing stage of neoplastic process.

**INTRODUZIONE** - La p53 è una fosfoproteina nucleare che agisce come **fattore** di trascrizione negativo, interagisce con proteine nucleari endogene ed esogene, aumenta in risposta a danni del DNA bloccando il ciclo cellulare fino alla riparazione del DNA e, qualora ciò sia impossibile, determina apoptosi (Sagartz et al., 1996). Nelle cellule normali la proteina p53 ha un'emivita molto breve ed è presente a livelli molto bassi ma, in caso di alterazioni genetiche, si lega a specifiche sequenze bersaglio di DNA accumulandosi nel nucleo cellulare e diventando, così, determinabile immunoistochimicamente. Mutazioni e/o superespressione della p53 sono le più comuni alterazioni genetiche rilevate nel cancro dell'uomo e sono state correlate all'aggressività di molti tumori maligni (Guillou et al., 1996). Pur non essendo chiaro il ruolo della p53 nel processo di cancerogenesi spontanea negli animali domestici, si ritiene che la trasformazione neoplastica sia associata a mutazione ed accumulo di tale proteina (Sironi et al., 1994). La determinazione immunoistochimica della proteina p53 rappresenta un semplice metodo di esame dello stato funzionale delle cellule. Lo scopo delle nostre indagini è quello di valutare l'espressione immunoistochimica della proteina p53 nel seminoma del cane.

**MATERIALI E METODI** - Abbiamo effettuato uno studio retrospettivo su 16 casi di seminoma del cane. I tumori sono stati classificati, in accordo con la World Health Organization (WHO), seguendo criteri istomorfologici, come un seminoma intratubulare senza invasione, un seminoma intratubulare con invasione e 14 seminomi diffusi. Tutti i campioni, precedentemente fissati in formalina neutra tamponata al 10% o in liquido di Bouin e inclusi in paraffina, sono stati sottoposti all'indagine immunoistochimica con il metodo Avidina-Biotina-Perossidasi utilizzando l'anticorpo monoclonale anti-p53 a diluizione 1:50 (Dako, Milano). Come cromogeno è stata impiegata la Diaminobenzidina. La colorazione nucleare di contrasto con Ematossilina è stata omessa quando necessario per ottenere risultati inequivocabili. Un tumore veniva considerato positivo alla p53 se era presente un'indubbia colorazione nucleare bruno-ruggine, pur considerando la possibile variabilità tra tumore e tumore e tra un'area e l'altra dello stesso campione. Come controllo è stato impiegato un testicolo normale di cane. In questo studio preliminare, è stata analizzata la differente espressione della proteina p53 nei diversi tipi di seminoma e nel testicolo normale valutando l'intensità della colorazione nucleare specifica, indicando con + la colorazione meno intensa, con ++ quella intermedia e con +++ quella più forte.