

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE CÓRDOBA

## FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

### EVALUACIÓN DE EXPRESIÓN DE E- CADERINAS COMO FACTOR PREDICTIVO DE RECURRENCIA Y PROGRESIÓN DE CARCINOMA UROTELIAL VESICAL NO MUSCULO INFILTRANTE

Trabajo de Tesis para optar al  
Título de Doctor en Medicina y Cirugía

**Verónica Bengió**

CORDOBA  
REPUBLICA ARGENTINA  
2009

**COMISION DE SEGUIMIENTO DE TESIS:**

Director:

Profesora Doctora Gladys Martellotto

Integrantes:

Profesor Doctor Aldo R. Eynard

Profesor Doctor Daniel Piccinni

Artículo 30° del Reglamento de la Carrera de Doctorado en Medicina y Cirugía: “LA FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS NO SE HACE SOLIDARIA CON LAS OPINIONES DE ESTA TESIS”

## **DEDICATORIAS**

**A mis hijos Luis Gonzalo, Mariana, Carolina y Joaquín.**

## **AGRADECIMIENTOS**

**A mi padre por su permanente estímulo y apoyo incondicional para concretar este proyecto**

**A mi madre, que me acompañó con su entereza y tenacidad**

**A Luis, mi compañero, por su ánimo constante y compromiso**

**A mis compañeros y colaboradores de Servicios de Patología, de Hospitales Córdoba y Tránsito Cáceres, y de Clínica Sucre, por su cooperación.**

**A mis colegas médicos urólogos quienes, gracias al intercambio de experiencias e interrogantes que hemos compartido, han hecho posible concebir este texto.**

## INDICE

RESUMEN .....	7
ABSTRACT.....	9
<b>CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>11</b>
1.1 Consideraciones generales de carcinoma de vejiga urinaria.....	12
1.2 Carcinoma superficial de vejiga urinaria.....	19
1.3 Consideraciones acerca de biología molecular de carcinoma de vejiga urinaria: su valor como factor pronóstico.....	22
1.4 Moléculas de adhesión celular. Caderinas.....	24
Objetivos.....	30
<b>CAPITULO 2: MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>31</b>
2.1. Pacientes y metodología diagnóstica.....	32
2.2. Tratamiento .....	33
2.3. Evaluación patológica.....	36
2.4. Técnica de inmunohistoquímica: anticuerpos monoclonales, análisis e interpretación .....	37
2.5. Análisis estadístico .....	40
<b>CAPITULO 3: RESULTADOS.....</b>	<b>41</b>
3.1. Descripción del grupo de estudio .....	42
3.2. Hallazgos histológicos	
3.2.1 Grado tumoral .....	42
3.2.2 Estadio tumoral.....	43
3.2.3 Otras características.....	45
3.3. Evolución de la enfermedad.....	45
3.3.1 Recidiva tumoral.....	45
3.3.2 Progresión tumoral.....	46
3.4. Descripción de los hallazgos de Inmunomarcación con E- caderinas:	
3.4.1. Grado tumoral .....	46
3.4.2. Estadio tumoral .....	48

3.4.3. Otras características clínico- patológicas .....	48
3.4.4. Recidiva de carcinoma superficial de vejiga urinaria.....	48
3.4.5. Progresión de carcinoma superficial de vejiga urinaria.....	52
3.4.6. Tiempo libre de progresión .....	54
<b>CAPITULO 4: DISCUSIÓN.....</b>	<b>56</b>
4.1. Consideraciones generales .....	57
4.2. Aspectos de inmunomarcación con E-Cd .....	61
4.2.1 Grado tumoral y expresión de E-Cd.....	62
4.2.2. Estadio tumoral y expresión de E-Cd.....	64
4.2.3. E-Cd y recurrencia tumoral .....	66
4.2.4 E-Cd y progresión tumoral.....	68
4.2.5 Consideraciones de otros aspectos de tumores vesicales en relación a expresión de E-Cd.....	70
4.2.6 Consideraciones clínicas.....	72
Conclusiones.....	75
<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>79</b>
<b>ANEXO:</b>	
Certificaciones.....	94
Presentación a Congresos y Concursos.....	96

## RESUMEN

Los tumores superficiales de vejiga (no músculo-infiltrantes) constituyen un grupo heterogéneo de lesiones de evolución dispar, con marcada tendencia a la recidiva y progresión tumoral, cuya historia natural no puede ser predecida con seguridad en base a un caso individual. Hay evidencias que sugieren que moléculas de adhesión celular, como la E-Caderina (E-Cd) podrían tener importancia en el desarrollo y progresión del cáncer vesical.

En este estudio, se examinaron retrospectivamente 46 pacientes con diagnóstico de tumor superficial de vejiga urinaria, con evaluación, tratamiento y seguimiento estandarizados, con tiempo de observación promedio de 81 meses (tiempo máximo de 130 meses). Los tejidos se fijaron en formol neutro e incluyeron en parafina. Se evaluó la expresión de E-caderina (E-Cd) en el epitelio tumoral mediante sistema de detección inmunohistoquímica a través de sistema Biotina-Estreptavidina-Peroxidasa-DAB. La determinación de expresión de E-Cd por inmunomarcación permite distinguir dos distintos patrones de expresión: patrón homogéneo, o normal, y heterogéneo o anormal. Se utilizó como método estadístico test de Wald, Odd ratio y test de verosimilitud ( $p$ -valor). Para estimación de número de recidivas se ajustó a modelo de regresión Poisson. El tiempo libre de progresión se analizó con modelo de riesgo proporcional de Cox.

La distribución por sexo fue a predominio masculino (31 casos, 67 %), con promedio de edad de 67,3 años. 67 % de los pacientes tenían factor de riesgo de tabaquismo. El signo clínico dominante fue la hematuria, y la forma macroscópica de presentación predominante fue como tumor único con patrón de crecimiento papilar exofítico. Acorde a la clasificación de OMS, 10 casos fueron categorizados como G I, 27 (58 %) como G II y 9 casos como G III. La expresión anormal de E-Cd de tumores G I versus G III fue estadísticamente significativa ( $p= 0,03$ ). La reclasificación de grado tumoral acorde a Consenso OMS/ISUP mostró distribución equitativa de carcinomas de bajo y alto grado (22 casos en cada categoría), cuyo patrón de expresión anormal de E-Cd en carcinomas de alto grado en relación a bajo grado fue también significativa ( $p= 0,02$ ). Siguiendo la estadificación de TNM, 22 casos fueron considerados p Ta (no infiltrantes de lámina propia) y 24 como p T1 (infiltrantes de lámina propia); la expresión anormal de caderinas predomina en estadio pT1 ( $p= 0,02$ ).

Con respecto a la evolución de estos pacientes, en el seguimiento se constataron recidivas en 31 casos (67 %), de los que 17 pacientes recidivaron en más de una oportunidad, y 18 lo hicieron en forma temprana, antes de 12 meses luego de la resección de la primera neoplasia. El patrón de expresión anormal de E-Cd en el primer tumor se asocia significativamente con la ocurrencia de recidivas ( $p=0,04$ ), con la aparición de más de una recidiva ( $p=0,01$ ) y recidivas tempranas ( $p= 0,008$ ). La progresión tumoral se constató en 8 pacientes (26 %), con asociación significactiva de expresión de E-Cd ( $p= 0,02$ ). El tiempo libre de progresión (sin recurrencia) posee asociación significativa con grado tumoral según clasificación de OMS y Consenso ( $p= 0,01$  para cada uno de los sistemas de clasificación), y con expresión anormal de Caderinas ( $p= 0,02$ ).

De estas observaciones surge que la expresión anormal de E-Cd constituye un factor predictor independiente de menor sobrevida libre de progresión ( $p=0,02$  en modelo conjunto de regresión logística múltiple).

Concluimos que el patrón de expresión de E-Cd en carcinoma superficial de vejiga urinaria se asocia significativamente con parámetros morfológicos, clínicos y evolutivos, y provee información pronóstica adicional en la evolución de los tumores superficiales de vejiga urinaria, complementando la información pronóstica de parámetros clínicos e histopatológicos clásicos.

## Summary

Superficial bladder tumors (non-muscle infiltrating) are a heterogeneous group of injuries of disparate development, with strong tendency to recurrence and tumor progression, whose natural history can not be predicted with certainty based on an individual case. There is evidence that suggests that cell adhesion molecule, like E-Cadherin (E-Cd) may play a fundamental role in the development and progression of bladder cancer.

In this study, 46 patients diagnosed with superficial bladder tumor were retrospectively reviewed, with standardized evaluation, treatment and follow-up, with an observation average time of 81 months (maximum period of 130 months). The tissues were fixed in neutral formalin and included in paraffin. The expression of E-Cadherin (E-Cd) was evaluated in the epithelial tumor by immunohistochemical detection system via Biotin-streptavidin-Peroxidase-DAB system. The determination of expression of E-Cd by immunohistochemistry allows the distinction between two different patterns of expression: homogeneous or normal pattern, and heterogeneous or abnormal. The statistical method used was Wald test, Odd- ratio test and verisimilitude (p-value). To estimate the number of relapses the Poisson regression model was followed. The progression-free time was analyzed with Cox proportional hazards model.

The distribution by sex was a male predominance (31 cases, 67%) with an average age of 67.3 years. 67% of patients had risk factor for smoking. The dominant clinical sign was the hematuria, and the macroscopic form of dominant presentation was a single tumor with exophytic papillary growth pattern. According to the WHO classification, 10 cases were classified as G I, 27 (58%) as G II and 9 cases as G III. The abnormal expression of E-Cd of G I versus G III tumors was statistically significant ( $p = 0.03$ ). The reclassification of tumor grade according to WHO / ISUP Consensus showed equitable distribution of low and high grade carcinomas (22 cases in each category), whose pattern of abnormal expression of E-Cd in high-grade carcinomas in relation to low-grade was also significant ( $p = 0.02$ ). Following the TNM staging, 22 cases were considered p Ta (lamina propria non-infiltrating) and 24 as p T1 (lamina propria infiltrating), the abnormal expression of

cadherin dominates stage PT1 ( $p = 0.02$ ). With regard to the evolution of these patients, in the follow-up treatment recurrences were found in 31 cases (67%), of which 17 patients relapsed more than once, and 18 relapsed early, before 12 months after the resection of the first malignancy. The abnormal expression pattern of E-Cd in the first tumor was significantly associated with the occurrence rate of recurrences ( $p = 0.04$ ), more than one recurrence ( $p = 0.01$ ) and early recurrences ( $p = 0.008$ ). Tumor progression was found in 8 patients (26%), with considerable association of expression of E-Cd ( $p = 0.02$ ).

The progression-free time (no recurrence) has significant association with tumor grade according to WHO and Consensus classification ( $p = 0.01$  for each classification system), and abnormal expression of Cadherin ( $p = 0.02$ ). From these observations is evident that the abnormal expression of E-CD is an independent predictor factor of lower progression-free survival ( $p = 0.02$  in model set of multiple logistic regression).

We concluded that the pattern of expression of E-Cd in superficial bladder carcinoma was significantly associated with morphological, clinical and evolutionary parameters, and provides additional prognostic information in the evolution of superficial bladder tumors, complementing the prognostic information of classic clinical and histological parameters.

# Capítulo 1

## **INTRODUCCION**

## Capítulo 1- INTRODUCCIÓN

**1.1. Consideraciones generales del carcinoma de vejiga urinaria:** Los tumores de la vejiga urinaria constituyen un tipo de neoplasias de elevada incidencia y tendencia creciente dentro de la patología oncológica, comprenden aproximadamente 2 % de todos los tumores malignos (7 % del total de cánceres en varones y el 2 % en las mujeres) (2). El cáncer vesical ocupa el cuarto lugar de incidencia neoplásica en el hemisferio occidental, precedido por los cánceres de próstata, pulmón y colon, representando en Europa y Estados Unidos entre el 5% al 10% del total de los tumores malignos (133).

El riesgo de desarrollar cáncer de vejiga en individuos menores de 75 años es del 2-4 % en hombres y del 0,5-2 % en mujeres. La tasa de mortalidad estandarizada varía de 2 a 10 cada 100.000 habitantes/ año en los hombres y de 0,5 a 4 cada 100.000 habitantes/ año en las mujeres (22-133).

La referencia estadística global de nuestro país es aportada por el Atlas de Mortalidad por Cáncer, basado en los registros de la Dirección de Estadísticas de Salud del Ministerio de Salud de la Nación sobre las causas de defunciones ocurridas en las distintas Provincias en el periodo 1997-2001. Según las mismas, la tasa de mortalidad por cáncer de vejiga es del 4.8% en varones, no figurando entre las diez primeras causas en mujeres (108). Investigaciones sugieren que las mujeres multíparas tienen menor riesgo de cáncer de vejiga que las nulíparas, situación probablemente relacionada con los cambios hormonales durante el embarazo (23). Adicionalmente, animales de experimentación tratados con andrógenos desarrollaron mayor número de cánceres de vejiga que los que recibieron estrógenos, sugiriendo que las hormonas androgénicas estimulan, o no inhiben, los procesos oncogénicos (144).

Su etiología es claramente multifactorial e involucra una combinación de interacciones genéticas, ocupacionales y ambientales, siendo claramente estos últimos factores la causa del constante aumento de su frecuencia (2-22). La relación entre la exposición y manipulación de tinturas sintéticas y el desarrollo subsiguiente de cáncer de vejiga, fue establecida en la segunda mitad del siglo XIX, constituyendo una de las primeras observaciones sobre causas indudables de cáncer. Esta evidencia fue apoyada experimentalmente en las primeras décadas del siglo XX con la comprobación

que la ingestión de 2-naftilamina, una arilamina utilizada en la manufactura de tinturas industriales, era causa de cáncer de vejiga en perros (70). La primera evidencia epidemiológica fué publicada en 1954 (25), observándose un incremento de riesgo de cáncer de vejiga 20 veces superior en los trabajadores expuestos a tinturas químicas respecto a la población general. Otras industrias y ocupaciones con alto riesgo de padecer cáncer vesical incluyen la industria del cuero, pinturas, peluquerías, conductores de camiones, petroleros y trabajadores de aluminio. También se ha establecido que el tabaquismo constituye un importante factor de riesgo de padecer cáncer de vejiga, estimándose que el 33 % de las neoplasias vesicales se relacionan con el hábito de fumar (14). Todos estos factores tienen como denominador la característica de exponer a los individuos a las mismas arilaminas (136). Las arilaminas requieren activación metabólica para transformarse en carcinógenos, constituyendo la hidroxilación hepática, catalizada por el citocromo P450, una primera etapa crítica (18, 19). Las hidroxiaminas circulan glucuronizadas, unidas a hemoglobina o libres, excretándose por riñón. Las formas glucuronizadas son hidrolizadas en el medio ácido de la vejiga, pudiendo unirse de manera covalente al ADN urotelial. El daño a ADN puede inducir a la mutación en proto-oncogenes y/o genes supresores de tumor, etapa crítica en la transformación de células normales a sus fenotipos malignos (17, 172). La vía más importante de detoxificación de las arilaminas es la N-acetilación hepática, que en los humanos se manifiesta con dos fenotipos distintos de la enzima, conocidos como acetiladores rápidos y lentos (18), existiendo fuertes evidencias epidemiológicas que los acetiladores lentos tienen 30% a 50% más riesgo de padecer cáncer de vejiga que los acetiladores rápidos (104).

Las tinturas utilizadas para el teñido de cabellos representan otra fuente de exposición a arilaminas en humanos como un potente carcinógeno de la vejiga, 4-amino-difenil. Ampliamente utilizadas en todo el mundo, particularmente en los países desarrollados, ha sido demostrado que varias marcas comerciales de las mismas son mutagénicas y contienen reconocidos carcinógenos animales, explicando porque las mujeres que lo usan continuamente y por tiempo prolongado tienen riesgos similares de padecer cáncer vesical que el grupo de fumadoras (54, 55,56).

Existen no muchas pero sí contundentes comunicaciones respecto a la asociación entre la ingestión de aguas arsenicales y la incidencia de cáncer vesical (41).

Si bien no son muy numerosos los individuos expuestos a esta situación en el mundo, la causa cobra especial trascendencia en nuestro medio, específicamente en el noreste y este de nuestra provincia (Departamentos San Martín y San Francisco), cuyos pobladores estuvieron expuestos durante décadas a la ingesta de aguas arsenicales, informando las estadísticas disponibles una incidencia de tumores de vejiga en promedios sensiblemente superiores a la media nacional. Esta situación fue corroborada por estudios de investigadores de Argentina y de la Universidad de Berkeley, quienes trabajaron en nuestra provincia y en el norte de Salta con situaciones similares e idénticos resultados (69).

Las infecciones crónicas del tracto urinario están asociadas con el desarrollo de cáncer de vejiga, especialmente de tipo carcinoma de células escamosas (23). Este tipo de cáncer puede encontrarse en pacientes con lesiones de médula espinal, proclives a cistitis con formación de nitritos y nitratos a partir de la actividad de la flora bacteriana, promoviendo mayor proliferación celular y aumentando las posibilidades de errores genéticos espontáneos. De manera similar, la infestación vesical por *Schistosoma Hematobiun* produce el desarrollo de cánceres vesicales epidermoides, como lo demuestran las estadísticas de las regiones donde la parasitosis es endémica (9). La irritación crónica de las vías urinarias en ratas y ratones, inducida por melamina, favorece el desarrollo de esta neoplasia (34, 35).

La radioterapia es también un conocido factor de riesgo de cáncer vesical: estudios efectuados en mujeres con cáncer ovárico que recibieron radioterapia o quimioterapia mostraron riesgo significativo de padecer cáncer de vejiga en comparación con aquellas que fueron tratadas con cirugía (78). La Ciclofosfamida, agente alquilante usado particularmente en enfermedades linfó y mieloproliferativas, incrementa el riesgo de cáncer de vejiga en relación con la dosis utilizada (167).

No se han encontrado asociaciones consistentes entre el uso de edulcorantes (sacarina, ciclamato) y riesgo de cáncer de vejiga, hipótesis elaborada a partir de la fuerte relación encontrada en animales de experimentación (ratas) que recibieron dosis muy altas de esas sustancias, probablemente debido a mecanismos biológicos específicos de algunos modelos animales que no existen en humanos (159). Sin embargo, resultados recientes de algunas investigaciones muestran asociación de riesgo con edulcorantes acetil-sulfamidas (121).

Los agentes antiinflamatorios no esteroideos son reconocidos por su acción quimio-preventiva respecto al cáncer de colon, presumiblemente debido a su acción inhibitoria de la expresión de COX-2, enzima cuya sobreexpresión está relacionada a la mayoría de los cánceres más importantes, incluido el cáncer de vejiga (142), existiendo evidencias epidemiológicas que el uso regular y sostenido de antiinflamatorios no esteroideos reduce el riesgo de cáncer vesical (27). Los carotenoides han mostrado acción protectora para la producción de cáncer vesical inducidos en animales de experimentación, habiéndose demostrado que los fumadores que ingieren altas cantidades de carotenos exhiben bajas tasas de arilaminas asociadas a hemoglobina respecto a aquellos con baja ingesta de carotenos (26).

La relación entre la dieta lipídica y la incidencia de cáncer ha sido establecida a través de numerosas observaciones, demostrándose que el consumo de ácidos grasos esenciales da lugar a baja incidencia de cáncer (24, 49). El principal interés respecto al papel de los ácidos grasos insaturados en este campo es el referido al impacto citotóxico sobre la tumorigénesis, interés incrementado por la demostración experimental en líneas de células cancerosas humanas, incluyendo cáncer de vejiga, que aquellos pueden incrementar la expresión de moléculas de adhesión (caderinas) involucradas en los mecanismos de diseminación y metástasis neoplásicas (66, 133). Más allá de la brecha entre las evidencias experimentales in vitro o en animales de experimentación y la clínica en humanos, resulta evidente el interés potencial de estas observaciones.

Aproximadamente 95 % de las neoplasias vesicales son de estirpe epitelial, siendo 80-90 % con diferenciación urotelial (células transicionales). La presencia de otros tipo de epitelio en la mucosa vesical (epitelio escamoso en zona de trigono y epitelio cúbico en 20 % de las vejigas) hace posible no solo la diferenciación focal de carcinoma urotelial a transformación escamosa o glandular, sino tambien da lugar a la aparición de carcinoma de células escamosas (4 %) y adenocarcinoma (0,5 %) (2).

La valoración de los grados de diferenciación de los tumores uroteliales constituye uno de los temas mas debatidos en la práctica cotidiana. Desde Broders, en 1922, hasta nuestros días, se han diseñado diversos métodos, llevándose a cabo en los últimos años un sustancial progreso en la clasificación de grados y estadios de los tumores vesicales. En 1998, en reuniones llevadas a cabo en Washington DC y Boston,

Massachussets, un grupo de patólogos expertos, oncólogos, urólogos e investigadores representando a la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Sociedad Internacional de Patólogos Urológicos (ISUP), publicaron una nueva clasificación de cáncer vesical, surgiendo como resultado la Clasificación del Consenso de Patólogos OMS-ISUP (49) (Figura nº 1).

**Figura nº 1- Clasificación de Consenso de Organización Mundial de la Salud/ Sociedad Internacional de Patología Urológica (OMS-ISUP) de neoplasias uroteliales de vejiga urinaria (49)**

Normal

Hiperplasia

Hiperplasia plana

Hiperplasia papilar

Lesiones planas con atipia

Atipia reactiva (inflamatoria)

Atipia de significado desconocido

Displasia (neoplasia intraurotelial de bajo grado)

Carcinoma in situ (neoplasia intraurotelial de alto grado)\*

Neoplasias papilares

Papiloma

Papiloma invertido

Neoplasia papilar de bajo potencial maligno

Carcinoma papilar de bajo grado

Carcinoma papilar de alto grado

Neoplasias invasoras

Invasión de lámina propia

Invasión de muscular propia (músculo detrusor)

El propósito de esta reagrupación de tumores vesicales es el desarrollo de una clasificación de aceptación universal que pueda ser utilizada efectivamente por patólogos, urólogos y oncólogos; de esta manera se facilita la uniformidad en los informes patológicos

que permiten comparar los diferentes estudios y terapias y proveer información más segura a los urólogos en el manejo de los pacientes.

El principal aporte de la clasificación de Consenso con respecto a la clasificación de OMS del año 1973 consiste en la división de todas las neoplasias malignas en dos categorías de carcinomas papilares, de alto y bajo grado, además identifica a la llamada neoplasia papilar de bajo potencial maligno (NPBPM), separándola del resto de lesiones por la capacidad no invasiva. En términos generales la categoría de carcinoma grado 2 fue reemplazado por carcinoma de bajo grado y el carcinoma grado 3 por carcinoma de alto grado (119). Sin embargo, el grado tumoral constituye uno de los factores predictivos más potentes. Las principales características morfológicas de las lesiones papilares de vejiga urinaria están resumidas en el siguiente cuadro (figura nº2)

**Figura nº 2:** Caracterización morfológica de neoplasias uroteliales (Clasificación de Consenso) (119)

	CONFIGURACION		DISTRIBUCIÓN CELULAR			CARACTERÍSTICAS NUCLEARES Cromatina		
	Papilar	Nodular	Uniforme	Agrupadas	Pleomorfismo	Fina	Tosca	Gran Nucleolo
NPBPM	+++	0	+++	0	+	+++	0	±
Carcinoma de Bajo grado	++	+	+++	0	+	++	±	+
Carcinoma de Alto grado	+	+++	0	+++	+++	+	+++	++

0: ausente; +: ocurre esporádicamente; +/-: ocurre en algunos tumores pero no es consistente; ++: ocurre en la mayoría de los tumores; +++: Ocurre en todos o casi todos los casos. \*

Los sistemas de estadificación, así como los de gradación, tienen como objetivo categorizar las neoplasias prediciendo su actividad sobre la base de su comportamiento anterior al reconocimiento clínico. Aunque es la intención de promover la comunicación estableciendo una base estable para el estudio del cáncer, los esquemas de estadificación requieren modificaciones y alteraciones periódicas a medida que está disponible nueva información. Frecuentemente, el sistema es el resultado de un consenso y debería ser considerado como la práctica más corriente en

la actividad cotidiana. Actualmente se recomienda el uso de la formulación de la American Joint Cancer Committee (AJCC), establecido en 2002 (4). El procedimiento para la clasificación por el sistema TNM de vejiga urinaria se realiza a través de examen clínico, imagenológico y endoscópico, anteponiéndose la letra “p” (p T, p N y p M) para la clasificación patológica (119). Se utiliza los códigos Tx, Nx y Mx en situaciones que no pueden ser detalladas; N0 y M0 significa ausencia de metástasis en ganglios u otros órganos. A través del tiempo, fueron distintas las propuestas de estadificación del cáncer vesical, expresadas en el siguiente cuadro, que establece una síntesis y comparación entre los distintos sistemas (Figura nº 3).

**Figura nº 3:** Sistemas de Estadificación de cáncer de vejiga urinaria, según Murphy WM (de: Tumors of the Kidney, Bladder and related Urinary Structures, AFIP Atlas of Tumor Pathology, Series 4, Washington DC, American Registry of Pathology, 2004)

Jewett 1946	Jewett 1952	Marshall 1952	Bladder Cancer Staging (Clínico- patológico)		AJCC 2002	
					Clínico	Patológico
		0	Espécimen sin tumor		T0	pT0
			No invasión	CIS		PTis
A	A			Tumor papilar	Ta	PTa
		A	Invasión	Lamina propia	T1	pT1
B	B1	B1		Músculo superficial	T2	pT2a
	B2	B2		Músculo profundo		pT2b
C	C	C		Tejido paravesical	T3	pT3
				Microscópico		pT3a
				Macroscópico		pT3b
		D1		Organos o tejidos contiguos	T4	pT4
			Metástasis	Ganglios linfáticos regionales	N1-3	pN1-3
					(<2 cm, 2-5 cm, >5 cm)	
		D2		Sitios distantes	M1	pM1

En la vejiga urinaria, la invasión y el grado tumoral están cercanamente relacionados. La NPBPM nunca invade, y los carcinomas de bajo grado invaden en menos del 20 % de los casos. Por el contrario, la mayoría de los carcinomas de alto grado son invasivos. La invasión de lámina propia puede ser determinada cuando las células tumorales se disponen en nidos pequeños y cordones, con atipia mayor a la contraparte tumoral de la superficie.

La evaluación histopatológica convencional del cáncer vesical (grado y estadio) es insuficiente para predecir el comportamiento de la mayoría de los tumores vesicales. Si bien existen nuevas técnicas de laboratorio que nos han permitido

conocer mejor cómo el cáncer de vejiga se desarrolla y progresa, pocas de ellas son utilizadas corrientemente para uso clínico. Sería una meta a cumplir el desarrollo de marcadores pronósticos confiables de potencial aplicación clínica los cuales predecirán con mayor seguridad no sólo el curso clínico sino también la respuesta del tumor a las terapias habituales. Más importante, esta información puede ser empleada en el futuro para determinar nuevos tratamientos para la prevención de y/o estabilización de eventos moleculares tempranos que lleven al desarrollo de cáncer vesical (176).

**1.2. Carcinoma superficial de vejiga urinaria:** El uso clínico ha consagrado el concepto de *carcinoma superficial de vejiga* como aquella neoplasia que no ha invadido músculo detrusor. Esta denominación, si bien posee algún mérito clínico, no es empleada en sentido histopatológico estricto, ya que algunos casos presentan invasión de lámina propia a través de la membrana basal (5). Al momento del diagnóstico del tumor primario, el 70 % de los mismos son superficiales, el 25 % ya invaden la capa muscular y un 5 % presentan diseminación regional o a distancia (2). Desde el punto de vista biológico, carcinoma superficial es un término impreciso que agrupa diversas situaciones clínico-patológicas con disímiles capacidades evolutivas, abarca lesiones con diferentes patrones de crecimiento, morfología y progresión que incluyen desde papilomas hasta carcinomas de alto grado con invasión de lámina propia (3).

Dependiendo del tipo de la lesión inicial, los tumores superficiales recidivan en el primer año en promedios que oscilan entre el 40 y el 70 %. La tasa de progresión también es variable, evolucionando a lesión músculo-invasiva el 3-4 % de las lesiones papilares que inicialmente asientan en el epitelio, el 30 % de las que infiltran el estroma subepitelial y el 30-60 % cuando existe carcinoma "in situ" diseminado, como única lesión o asociado a los tipos anteriores (2).

La evolución de los tumores no-músculo invasivos puede ser determinada sobre la base de elementos clínicos e histológicos, que permiten la conformación de grupos de riesgo que servirán como referencia para establecer las conductas terapéuticas más adecuadas para cada uno de ellos.

De las referencias previas puede concluirse que con la denominación de carcinomas superficiales de vejiga urinaria se designan corrientemente a un grupo de neoplasias con diferentes patrones de crecimiento, morfología y progresión, características éstas que les confieren disímiles capacidades evolutivas. Por tales

razones, la denominación de tumores superficiales no parece la más adecuada para designar a este grupo heterogéneo de lesiones, toda vez que aquella puede dar lugar a una equívoca noción de “benignidad”, que no se compadece con las reales potencialidades evolutivas de los mismos.

De lo expuesto precedentemente se comprende porqué la posibilidad de predecir la evolución de este conjunto de tumores constituye una de las preocupaciones centrales en la consideración de los mismos.

El cáncer de vejiga es una enfermedad heterogénea que presenta una variable historia natural. La verdadera historia natural, sin tratamiento, de los tumores vesicales no músculo-invasivos es no del todo conocida, y muchas de sus características han sido estudiadas con el objetivo de predecir su conducta, incluyendo configuración patológica, análisis citológico y marcadores moleculares.

El carcinoma urotelial de vejiga urinaria se caracteriza por una historia natural dicotómica multicronotópica. La naturaleza dicotómica distintiva del cáncer de vejiga urinaria se manifiesta como lesiones de bajo y alto grado con distinta historia natural, comportamiento y pronóstico, a diferencia de los modelos tradicionales de tumorigénesis, basados en una progresión de neoplasias de bajo grado no infiltrante a lesiones de alto grado invasivas. En un extremo del espectro se encuentran los tumores papilares no infiltrantes (Ta) de bajo grado que tienen muy bajos promedios de progresión; requieren tratamiento endoscópico y vigilancia, pero en raras oportunidades constituyen una amenaza para el paciente. En el otro extremo se hallan los tumores que rebasan la capa epitelial y exhiben alto grado, poseen un alto potencial de malignidad asociado a promedios significativos de progresión y de muerte por cáncer.

Las neoplasias de bajo grado no infiltrantes de lámina propia (Ta) frecuentemente recurren, raramente invaden y tienen un excelente pronóstico con los tratamientos estándares. Las lesiones de alto grado Ta, con invasión de lámina propia (T1) y carcinoma in situ frecuentemente progresan a enfermedad invasora, y el pronóstico es significativamente peor, a pesar de varias alternativas de tratamiento (7).

La naturaleza multicronotópica del cáncer vesical es bien conocida, se refiere al desarrollo multifocal del tumor a través del urotelio, en el transcurso del tiempo. Este fenómeno ha sido atribuído a un “cambio de campo”, presumiblemente derivado de exposición a carcinógenos exógenos o endógenos (25).

La historia natural completa de la enfermedad sólo puede ser observada en las series más antiguas, cuando la terapéutica de referencia era sólo la resección transuretral del tumor. Posteriormente, la práctica de terapéuticas adyuvantes se convirtió en regla, con las lógicas influencias en la historia natural, por ejemplo la disminución de los promedios de recurrencia.

La historia natural de los tumores no-músculo invasivos puede ser determinada sobre la base de elementos clínicos e histológicos, que a su vez permiten la conformación de grupos de riesgo que servirán como referencia para establecer las conductas terapéuticas más adecuadas para cada uno de ellos.

En una larga serie de pacientes con tumores Ta y T1 que no recibieron terapia adicional luego de la RTU, el Proyecto del Grupo de Colaboración Nacional de Cáncer de Vejiga estableció los factores que influyen la recurrencia y progresión de la enfermedad (66). El estadio tumoral es predictivo de recurrencia y progresión, ya que solo el 30% de los estadios T1 permanecieron libres de tumor luego de 3 años sin terapia adyuvante, experimentando invasión muscular más de un tercio de los pacientes. La progresión, por el contrario, fue muy poco frecuente en los estadios Ta. El grado también tuvo importante significado pronóstico para recurrencia y progresión, con 50% de recurrencias en pacientes con tumores grado I y II, pero con solo 2-10% de progresión; por el contrario, cerca del 80% de pacientes con grado III desarrollaron recurrencia y la mitad progresó a enfermedad invasiva dentro de los tres años. Otros factores predictivos de recurrencia tumoral incluyen la presencia de neoplasia en la citología urinaria previa, múltiples lesiones vesicales, tamaño del tumor mayor a 3 cm y la existencia de displasia moderada o severa en áreas alejadas del tumor primitivo (22, 37, 103).

Aún con seguimiento a largo plazo, el grado y estadio inicial tienen importancia. A los 10 y 20 años, la supervivencia de pacientes con tumores grado I fue del 98% y 93% respectivamente. Por el contrario, en pacientes con lesiones grado III, la supervivencia fue del 35% y 28% para controles a 10 y 20 años, respectivamente (78).

Un reciente meta análisis de la Organización Europea para la Investigación y Tratamiento del Cáncer (EORTC) sobre el impacto de la instilación de compuestos quimioterápicos antitumorales inmediatamente luego de la RTU del tumor en 748 pacientes con lesiones Ta y T1 y con un seguimiento medio de 3.4 años, mostró que aquellos con adyuvancia inmediata tuvieron un índice de recurrencia del 36.7%,  
VB

contrastando con el 48.4% en los pacientes que no recibieron quimioterapia local (166). Este estudio no solo indica el valor de la quimioterapia local inmediatamente después de la RTU sino que corrobora que la tasa de recurrencia de tumores de bajo riesgo sin adyuvancia es sustancial. A similares conclusiones se había arribado en el estudio conjunto de la EORTC y el Consejo Médico de Investigación del Cáncer de Vejiga (MRC) (137).

Con algunas limitaciones, parece factible que los elementos de juicio considerados permiten establecer la historia natural de los tumores vesicales no invasivos y, por lo tanto, agrupar a los pacientes en niveles de riesgo. No obstante, esto no es aplicable todavía con las certezas deseables a cada paciente individualmente considerado. Aún así, estas referencias clínicas y patológicas han permitido elaborar guías de orientación, como las confeccionadas por la American Urological Association (AUA) y la European Association of Urology (EAU) Esta última diferencia pacientes de bajo riesgo (único tumor Ta, G1, < 3cm) y de alto riesgo (T1, G3, multifocal y con CIS asociado), ubicando como de riesgo intermedio a las lesiones T1, G1-2 y > a 3 cm. (128).

Los factores pronósticos comúnmente utilizados con ese objetivo son clínicos (tales como el grado de exposición a carcinógenos o antecedentes de recurrencias previas), o morfológicos (como el tamaño y número de los tumores, configuración sólida o papilar de los mismos, grado de diferenciación) y estadio patológico. El grado de diferenciación y el nivel de infiltración y estadio constituyen en la práctica los marcadores más utilizados para conocer la biología de estos tumores, con las limitaciones a que se han hecho referencia previamente. Aún con seguimiento a largo plazo, el grado y estadio inicial tienen importancia. A los 10 y 20 años, la supervivencia de pacientes con tumores grado I fue del 98% y 93% respectivamente. Por el contrario, en pacientes con lesiones grado III, la supervivencia fue del 35% y 28% para controles a 10 y 20 años, respectivamente (78).

**1.3. Consideraciones acerca de marcadores tumorales de carcinoma de vejiga urinaria: su valor como factor pronóstico.** Existen algunos indicadores de cambios moleculares a nivel celular asociados a los fenómenos tumorales de penetración e invasión que aparecen sumamente promisorios y por lo tanto susceptibles de investigación. Algunos de estos nuevos marcadores, no obstante su indudable valor teórico, no parecen responder a las expectativas iniciales desde que no conforman

predictores independientes de grado/ estadio.

Una respuesta a la problemática de la predicción de riesgo en un paciente determinado podría provenir de la aplicación de marcadores moleculares en las células tumorales, pero las ventajas de esta estrategia es aún potencial. Los factores moleculares con el objetivo señalado se revisaron recientemente y aún cuando se considera que en el futuro un panel de marcadores puede ser útil para predecir recurrencia o progresión en tumores vesicales superficiales y que son muchas las investigaciones en marcha, la predicción segura de la conducta tumoral basada en marcadores moleculares no es todavía realizable en la práctica clínica (143).

Se han realizado grandes esfuerzos de investigación a fin de mejor identificar y caracterizar el potencial biológico de los tumores de vejiga urinaria; la necesidad de predecir cual tumor superficial recurrirá ó progresará o cual de los tumores invasores darán metástasis ha llevado a una mejor comprensión y conocimiento de los patrones moleculares asociados con el cáncer vesical. La búsqueda de nuevas formas de predecir la evolución de las neoplasias en fases iniciales, condujo al desarrollo e incorporación de técnicas que expresaran los cambios a niveles bioquímicos y cromosómicos de la célula, tales como la expresión de antígenos hepáticos de superficie, la concentración de ADN nuclear, sobreexpresión o amplificación de oncogenes (Her 2 Neu, H-ras, ciclina D1), receptor de factor de crecimiento epidérmico,delección de genes supresores o estimulantes de la división celular como retinoblastoma, p53 y bcl2, y marcadores de las alteraciones de la comunicación intercelular (2,3, 62,87,125).

Se describen múltiples anomalías genéticas cuya acumulación constituye el factor crítico que determinan en definitiva el fenotipo tumoral y el comportamiento clínico consiguiente (176).

La diversidad clínico-patológica tiene una cierta analogía con los hallazgos cromosómicos, habiéndose detectado gran número de alteraciones genéticas que involucran múltiples regiones de diferentes cromosomas. En los tumores más agresivos prevalecen las alteraciones en el cromosoma 17, mientras que en los tumores papilares menos agresivos se detectan preferentemente pérdidas del brazo largo del cromosoma 9 (43, 46,172).

Las mutaciones del gen P 53 son distintivas de los cánceres vesicales

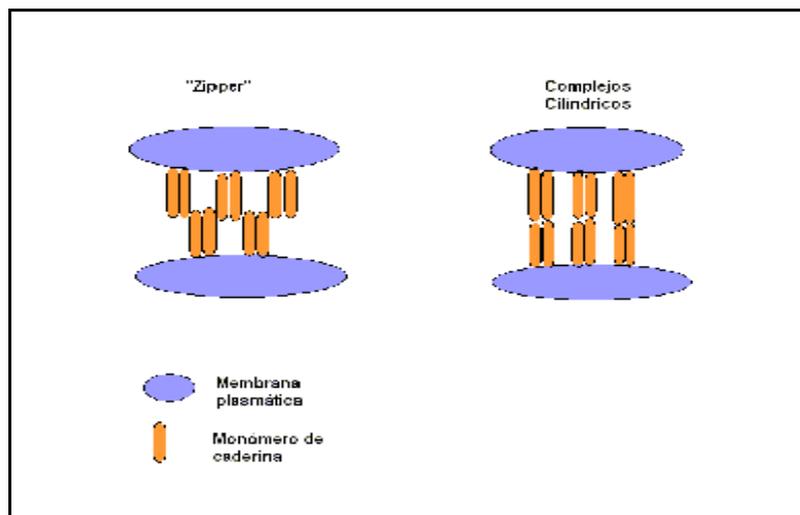
infiltrantes, con mutaciones en 40-60 % de los tumores vesicales (126). El gen supresor TP 53, localizado en cromosoma 17 q23, codifica una proteína que juega un importante papel en varios procesos celulares tales como regulación de ciclo celular en G1, la respuesta al daño de DNA, muerte celular y neovascularización (69). Además del papel preponderante que juega como marcador pronóstico, la positividad en la expresión inmunohistoquímica de TP 53 es un fuerte indicador para la presencia de neoplasia genéticamente inestable en aquellos casos con morfología cuestionable.

**1.4. Moléculas de adhesión celular: Caderinas.** La capacidad de las células tumorales para crecer sin control, migrar, invadir y dar metástasis está asociada a la perturbación de las uniones intercelulares y de célula-matriz extracelular. Por esta razón, se ha prestado especial atención a la identificación y caracterización de los receptores de adhesión celular involucrados en el desarrollo del tumor. Estas moléculas de adhesión conforman un sistema de glicoproteínas transmembrana, que median la cohesión de las células entre sí y con la matriz extracelular. Las principales familias de moléculas de adhesión son las caderinas, integrinas, fibronectinas, miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas y selectinas (79,167). Estas moléculas, además del rol en la adhesión celular, regulan o contribuyen significativamente a una variedad de funciones, incluyendo transducción de señal, crecimiento celular, diferenciación, morfogénesis, función inmunológica, motilidad celular, migración quimiotáctica, cicatrización de heridas e inflamación.

Las caderinas constituyen una superfamilia de moléculas de adhesión celular en todos los tejidos sólidos del organismo, son glicoproteínas transmembrana calcio-dependiente responsables de la adherencia selectiva homotípica célula-célula (141); además, juegan un papel fundamental en la constitución y mantenimiento de la arquitectura tisular y participan en un complejo patrón de señales que controlan la motilidad celular y el crecimiento (88); se han identificado actualmente más de 30 miembros de esta familia. Las primeras caderinas identificadas fueron las denominadas E (epitelial), P (placentaria) y N (neural), referidas como las clásicas caderinas de tipo I, a las que posteriormente se añadieron caderinas VE (vascular endotelial) y R (retinianas). Aunque algunas de las subclases de caderinas comparten similares propiedades, tales como alto grado de homología y peso molecular, cada subclase está caracterizada por un patrón único de distribución tisular y una interacción

discriminada. Otros grupos de Caderinas lo constituyen la caderinas clásicas de tipo II, las caderinas desmosomales y las protocaderinas.

Las moléculas de caderinas están compuestas de una región extracelular glicosilada (Terminal N) que posee 5 dominios (EC1- EC5) repetidos de 110 aminoácidos cada uno, una región transmembranosa y una región carboxi-terminal localizada en el citoplasma; Los fragmentos extracelulares de caderina existen en forma de dímeros estables paralelos, cuya estructura estaría mantenida por los iones de calcio. Se han elaborado dos teorías de organización molecular de los dímeros de caderina, una que aboga por un modelo similar a cierres de cremallera (“zipper”), con estructuras ordenadas en la superficie celular, mientras que otra sugiere un mecanismo alternativo en el que las moléculas de caderina (dímeros u oligómeros) actúan como unidades discretas en la que cilindros de proteínas se extienden desde la superficie celular a estructuras similares en la célula vecina (74) (figura nº 4).



**Figura nº 4:** Modelos de organización molecular de caderinas en uniones de adhesión. Modelo “zipper molecular” basado en los resultados de análisis de rayos x en el dominio EC1 de N-Caderina (izquierda). La derecha muestra modelo de oligómeros cilíndricos basados en resultados de microscopia electrónica de zónula adherens (De: Biochemistry (Moscow), Vol 66, nº 10, pp.1174-1186, 2001. Ivanov, Philippova)

El dominio citoplasmático de las caderinas se une a las cateninas (alfa, beta y gamma), siendo esta asociación esencial para el mantenimiento de las propiedades de adhesión. Las cateninas, a su vez, sirven de nexo entre las caderinas y filamentos de actina que conforman el citoesqueleto (figura nº 5).

La mayoría de los estudios de esta área se concentran sobre la función de **caderina E**

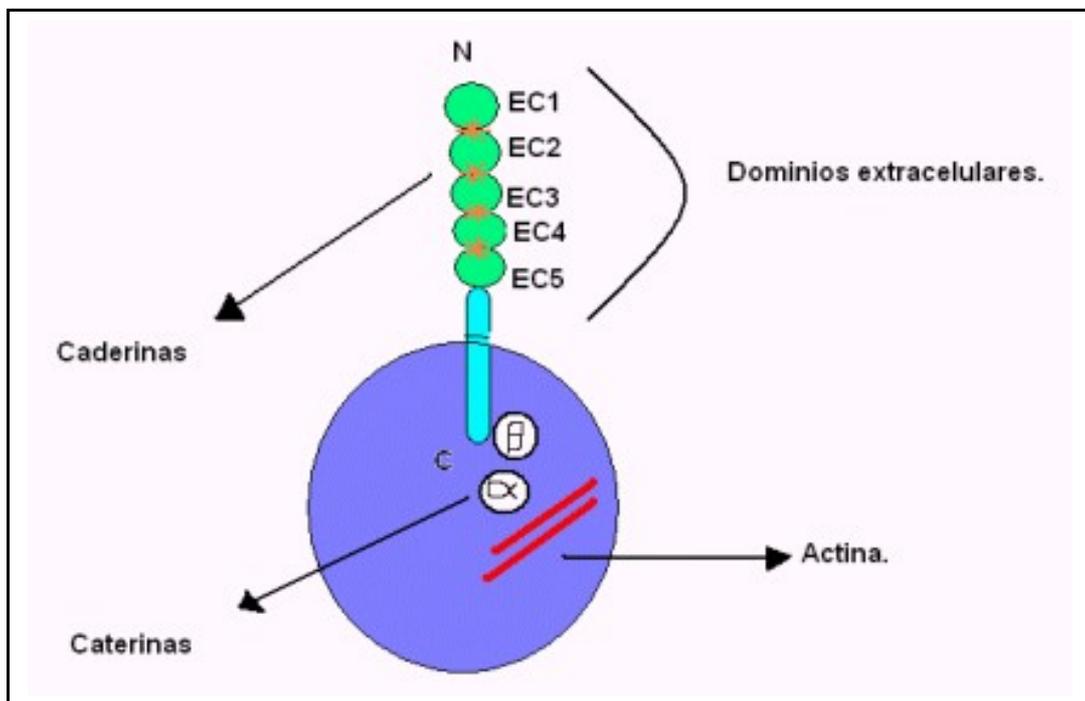
**(E-Cd)** en la transformación celular maligna. La adhesión celular normal depende de la integridad del complejo caderina-catenina; así, la perturbación del dominio intra citoplasmático de caderina resulta en la falta de asociación con cateninas y el citoesqueleto, con pérdida de la capacidad de adhesión (61). A partir de la función que desempeñan las caderinas en la adhesión celular, sustento de la estructura y regulación del fenotipo epitelial, se asume que la alteración de las relaciones celulares caderina-dependientes en un epitelio pueden provocar atenuación de las uniones celulares, pérdida del fenotipo epitelial, aumento de la motilidad celular, eliminación de la supresión de crecimiento por contacto y, como resultado, proliferación celular descontrolada e invasión. La pérdida de adhesión intercelular y la descamación de células a la lámina propia subyacente permite a las células malignas escapar de su sitio de origen, degradar la matriz extracelular, adquirir un fenotipo más móvil e invasivo y finalmente invadir y metastatizar. Los carbohidratos unidos a proteínas determinan la estabilidad proteica, actividad y especificidad de interacción, y están también involucradas en el reconocimiento célula-célula y célula-matriz (79,139).

Se ha comunicado que la caderina P (P-Cd, placentaria) se localiza sólo en el compartimiento de células basales de numerosos epitelios normales en los que las E-Cd se expresa en todo el espesor del mismo. Hay pocos estudios de la expresión de P-Cd en la tumorigénesis, cuyos resultados aparecen conflictivos con respecto a la expresión de P-Cd a través de la progresión. Estos resultados parecen diferir según los tejidos estudiados, sustentando la teoría que las caderinas pueden tener diferentes roles en los distintos tejidos. Tales observaciones enfatizan la complejidad de expresión de caderinas en estados normales y patológicos (61).

Las N-Cd, primero detectadas en tejido neural, han sido identificadas también en fibroblastos, músculo y células endoteliales, pero no en epitelio. Sólo recientemente han sido consideradas para un posible rol en la tumorigénesis celular epitelial con el hallazgo de expresión anómala de miembros de esta familia de caderinas en algunos carcinomas. Ha sido demostrado que en líneas celulares de carcinomas vesicales que no poseen expresión de E-Cd expresan N-Cd, que integran el complejo con miembros de la familia de las cateninas localizadas en la membrana celular. Estos datos sugieren que la regulación de expresión de genes que codifican diferentes miembros de las clásicas caderinas suceden durante la progresión del tumor y que la expresión de

algunas cateninas están coordinadas con la expresión de caderinas (61).

Estas líneas celulares expresan N-Cd cuando son invasivos, mientras que la E-Cd es expresada en líneas celulares menos invasivas. Hallazgos similares se han publicado en líneas celulares de carcinoma escamoso, mamario y prostático, surgiendo la hipótesis que la expresión de N-Cd puede intervenir en la interacción mesénquima-epitelio involucrada en la invasión tumoral (147).

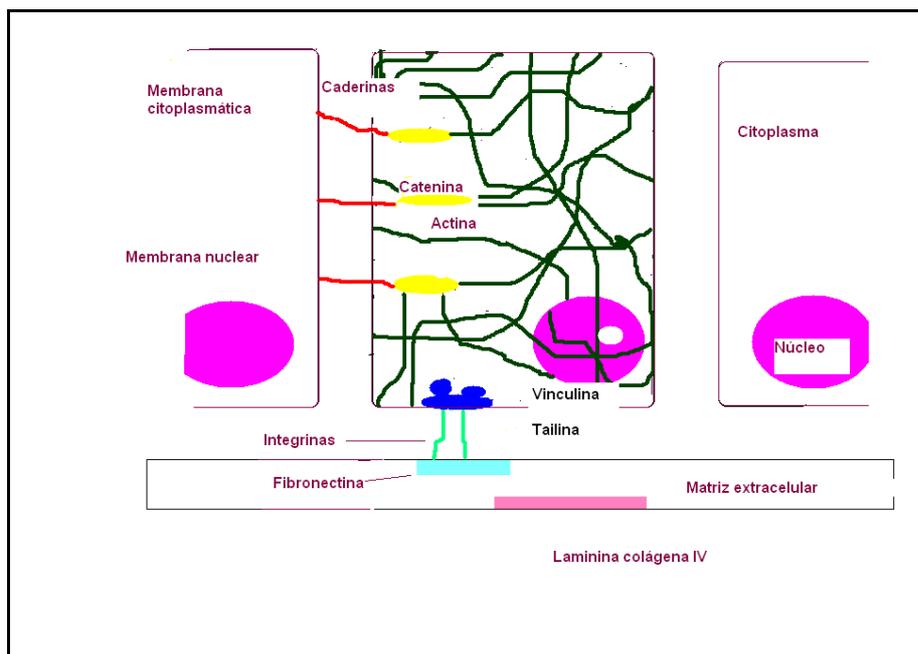


**Figura nº 5-** Estructura de caderina clásica y su interacción con proteínas citoplasmáticas. (De: Biochemistry (Moskow), Vol 66, nº 10, pp.1174-1186, 2001, Ivanov, Philippova, Tkachuk)

**Rol de las Caderinas en la tumorigénesis y progresión de las neoplasias:** Se ha evidenciado que las alteraciones de las propiedades de adhesión de las células tumorales pueden jugar un rol fundamental en el desarrollo y progresión de diversas neoplasias epiteliales. Se ha demostrado que la función defectuosa de E-Cd puede resultar de varios mecanismos: mutación de un gen, alteración de transcripción, o cambios en la interacción de E-Cd con proteínas del citoesqueleto, las cateninas. El gen que codifica la molécula de adhesión E-Cd está localizado en el brazo largo del cromosoma 16, en la posición 22-1 (163,164). Se han realizado estudios que determinan correlación entre delección de cromosoma 16q y patrón de tinción anormal de E-Cd, estimándose una mutación del gen E-Cd, con un comportamiento como un clásico gen VB

supresor (169). El mecanismo principal que lleva a la reducción de expresión de E-Cd en tumores yace en la transcripción disminuída del gen; de tal manera, hay expectativas referentes a que la comprensión de la regulación de la transcripción de E-Cd podría abrir vías para la terapéutica, restaurando la expresión normal (61).

Las alteraciones morfológicas de las células neoplásicas son la expresión de alteraciones genéticas, que provocan un incremento del ADN y distorsionan la matriz nuclear, lo que induce formas grotescas del núcleo, dadas las estrechas relaciones de éste con los filamentos intermedios del citoesqueleto y de este último con las moléculas de adhesión intercelular (figura nº 6). En las neoplasias uroteliales, los dos criterios principales de agresividad lo constituyen el incremento del tamaño nuclear (evaluado por el aumento del eje transversal y la relación núcleo-citoplasma) junto a la pérdida de la polaridad. Por lo tanto, las características citoarquitecturales del grado de diferenciación (tamaño nuclear, relación núcleo-citoplasma, esfericidad nuclear y pérdida de la polaridad) no son más que expresiones indirectas de la progresiva adición de alteraciones genómicas (3).



**Figura nº 6-** Interrelación entre citoesqueleto citoplásmico, matriz nuclear y extracelular (De. Estrategia actual para el futuro de la uro-oncología, Villavicencio Solsona, Acción Médica, Madrid 1999, pág. 26).

El deterioro de las uniones intercelulares es una situación que provoca la pérdida de la polaridad celular y la reorganización de los filamentos intermedios constitutivos

del citoesqueleto, la degradación de la membrana basal y la adquisición por parte de las células neoplásicas de la capacidad de motilidad y de crecimiento en la estroma. Entre estos mecanismos, la pérdida o disminución de expresión de los complejos E-Cd-alfa-catenina, la pérdida de expresión de integrinas asociadas a la unión celular con la estroma y la anormal expresión de la C-CAM-1, molécula de adhesión intercelular que favorece la acción inmunológica contra las células neoplásicas, son factores que favorecerían el incremento de la agresividad tumoral y su progresión (3).

## **OBJETIVOS:**

Por lo expuesto, tenemos los siguientes objetivos:

- 1                    Analizar la expresión de E-caderinas en carcinomas uroteliales superficiales.
- 2                    Establecer la expresión de E- Cd como probable factor pronóstico
- 3                    independiente en relación a grado y estadio de tumores vesicales superficiales.
- 4                    Determinar el rol de la expresión de caderinas en la individualización de pacientes en estadios tempranos con alto riesgo de recurrencia y progresión de cáncer. A los efectos prácticos, la evaluación de estos factores podría ser de utilidad para definir subgrupos de pacientes en los que deberá aplicarse una terapia más agresiva.

## Capítulo 2

# **MATERIALES Y METODOS**

## **CAPITULO 2: MATERIALES Y METODOS:**

**2.1. Pacientes y metodología diagnóstica:** La población bajo estudio estuvo constituida por 46 pacientes adultos de ambos sexos con diagnóstico de carcinoma urotelial superficial (no músculo-infiltrante) de vejiga urinaria asistidos en los Servicios de Urología del Hospital Córdoba y Clínica Sucre de la ciudad de Córdoba entre los años 1995 y 2000. Estos pacientes no registraban antecedentes previos de tumores vesicales

Treinta y un pacientes fueron varones (67 %) y 15 mujeres (33 %), con un promedio de edad de 67,3 años y un rango de 35 a 94 años. En todos los casos la expresión clínica de la enfermedad fue hematuria macro o microscópica, aislada o silenciosa, registrándose el intervalo de tiempo desde la aparición de este signo por primera vez y el momento de la consulta especializada de un rango entre 5 días a 25 semanas. En 5 pacientes varones se agregaron síntomas irritativos vesicales por patología obstructiva de origen prostático (hiperplasia prostática benigna) que preexistía a la aparición de hematuria.

Se recabaron datos a través de la historia clínica acerca de aspectos

epidemiológicos del grupo de pacientes que podrían relacionarse con cáncer vesical, sobre todo referidos al hábito de tabaquismo, así como también ocupación o consumo de

La metodología de estudio inicial incluyó estudios radiológicos por imágenes, ecografía, urograma y eventualmente tomografía computada.

El examen endoscópico de vejiga fue utilizado sistemáticamente para corroborar el diagnóstico radiológico y agregar otros elementos de juicio importantes para la estadificación primaria y el tratamiento posterior, tales como estructura tumoral (papilar o sólida), número de tumores, tamaño, base de implantación (pediculada o sésil), ubicación y relación con meatos ureterales y cuello vesical, y la existencia de patología agregada (litiasis, obstrucciones).

Se evaluó la evolución de los pacientes en un tiempo de seguimiento mínimo de 36 meses, con promedio de seguimiento de 81 meses, en el que se registraron las recidivas y progresión de las lesiones, correlacionándose con el tratamiento, tanto en aquellos sometidos solamente a resección quirúrgica como en los que recibieron adyuvancia de quimioterapia o inmunoterapia. Estos datos fueron incorporados a base de datos y forman la base de este estudio.

La tabla nº 1 expresa características de los pacientes que se evaluaron en este estudio, en relación a patrón de expresión de E-Caderina.

**2.2. Tratamiento:** Todos los pacientes fueron sometidos a resección tumoral transuretral vesical (RTUV) previo cuidadoso examen endoscópico para definir las lesiones asociadas; en este procedimiento se definieron características de las lesiones tales como patrón tumoral papilar/no papilar, localización, tamaño, número. Sólo un paciente que tuvo progresión a infiltración muscular en la recidiva, fue sometido posteriormente a cistectomía radical.

En el procedimiento de intervención cistoscópica de resección transuretral de tumor vesical se efectuó la extracción de la parte intraluminal del tumor hasta visualizar las fibras musculares de la base del tumor. Una vez aspirado el tejido tumoral, se profundiza la resección de la capa muscular y eventualmente se extrae tejido del epitelio de los bordes de la lesión, remitiéndose separadamente el material para estudio histopatológico. Otras zonas de la mucosa que endoscópicamente sugirieran CIS o displasia fueron igualmente reseçadas. En tumores que presentaron factores de riesgo

(multiplicidad lesional, volumen importante) se efectuaron biopsias frías randomizadas en sitios seleccionados de la mucosa alejados de la lesión.

En razón de la elevada tasa de recurrencia y, menos frecuentemente, progresión, que registran los tumores no músculo-invasivos, los pacientes fueron estratificados como de bajo, moderado y alto riesgo, siguiendo las pautas de la American Urological Association y la European Association of Urology <sup>(128)</sup>. Corresponden al grupo de bajo riesgo los pacientes con tumor único, menor a 3 cm. de diámetro, estadio Ta, grado I. El grupo de riesgo intermedio está integrado por aquellos pacientes con tumores estadio Ta, grado I-II, multifocales y mayores a 3 cm. de diámetro. Por último, se consideran de alto riesgo las lesiones estadio T1, grado III, multifocales, recurrentes y con carcinoma in situ (CIS) asociado.

Los pacientes con riesgo de presentar recurrencia y progresión recibieron adyuvancia local con antitumorales o inmunoterapia con BCG. Los pacientes con tumores papilares de bajo grado estadio Ta y sin antecedentes fueron exceptuados de



adyuvancia por sus posibilidades relativamente bajas de experimentar recurrencia - progresión. Los pacientes con lesiones múltiples, voluminosas, de alto grado y estadio Ta recibieron mitomicina endovesical, 40 mg por instilación endovesical por semana durante 4-6 semanas y luego 40 mg cada 30 días durante 12 meses. Los pacientes con tumor primario de cualquier estadio con lesiones de carcinoma in situ asociadas y aquellos con tumor primario estadio T1, realizaron adyuvancia con BCG (cepa Pasteur del Instituto Malbran) con un esquema de 120 mg semanales durante seis semanas y dosis cuatrimestrales de recuerdo <sup>(165)</sup>.

Los pacientes fueron controlados cada cuatro meses durante el primer año con cistoscopia y citología urinaria. Los pacientes que no registraron recurrencias en ese lapso fueron controlados cada seis meses.

**2.3 Evaluación patológica:** Se realizó estudio de revisión retrospectivo de tejido de resección trans-uretral de tumores vesicales (RTU) correspondientes a carcinomas superficiales de vejiga urinaria (no músculo-infiltrantes) procedentes de material de archivo de los Servicios de Anatomía Patológica del Hospital Córdoba y de Clínica Sucre.

El material fue fijado en formol al 10 %, incluido en parafina y coloreado con técnica de rutina de Hematoxilina-Eosina.

En la evaluación histológica, los tumores fueron clasificados según su grado de diferenciación siguiendo criterios de clasificación de OMS de 1973 <sup>(116)</sup> y Consenso OMS-ISUP <sup>(49)</sup>. La interpretación de nivel de infiltración se realizó según clasificación de American Joint Comité on Cancer (AJCC) de 2002 <sup>(4)</sup>. En todos los especímenes se corroboró la presencia de tejido muscular (correspondiente a músculo detrusor), libre de tumor. Se constataron además otras características histopatológicas de las neoplasias: asociación a carcinoma in situ (CIS), presencia de respuesta inflamatoria linfocitaria, intensidad y distribución de la misma, y permeación vascular. Los preparados histológicos fueron revisados en forma independiente por un patólogo experimentado de otro centro hospitalario que no tenía conocimiento del primer diagnóstico, a fin de evitar apreciación subjetiva de grado, estadio y otras características de las lesiones.

**2.4 Técnica de inmunohistoquímica para procesamiento de muestras: anticuerpos monoclonales, análisis e interpretación.** Se evaluó la expresión de E-caderina (E-Cd) en el epitelio tumoral de tejido obtenido por resección trans-uretral vesical, incluido en parafina, a los que se realizaron cortes de 5  $\mu$ m de espesor, montados en portaobjetos silenizados. Se utilizó como anticuerpo primario a E-Caderina (clon ech-6, BIO-SB). La detección inmunohistoquímica del anticuerpo primario se realizó a través de sistema de detección Biotina-Estreptavidina-Peroxidasa DAB (Inmunodetector HRP-DAB, BIO SB).

El procedimiento de inmunomarcación se realizó siguiendo los siguientes pasos:

- 1-Desparafinización de vidrios en xilol (2 cambios, 10 minutos cada uno).
- 2-Hidratación en alcohol 96 °, durante 5 minutos.
- 3-Lavado con PBS (fosfato buffer salino, 0,01 M, p H 7,4), sumergiendo totalmente los preparados durante 5 minutos (este procedimiento se repite en los sucesivos pasos de lavado)
- 4-Recuperación antigénica: Se colocan los preparados histológicos en recipientes de Coplin conteniendo buffer citrato, dentro de olla a presión, hirviendo durante 10 minutos.

5-Lavado con PBS durante 5 minutos.

6-Bloqueo de peroxidasa endógena: Se colocan preparados en cámara húmeda durante 10 minutos, con peróxido de hidrógeno al 10 % en solución con metanol.

7-Lavado con PBS durante 5 minutos.

8-Incubación con anticuerpo primario (E- Caderina), dilución 1/50, durante una hora, en cámara húmeda a temperatura ambiente.

9-Lavado con PBS durante 5 minutos.

10- Incubación con anticuerpo secundario biotinilado, durante 40 minutos, a temperatura ambiente, en cámara húmeda.

11- Lavado con PBS durante 5 minutos.

12-Incubación con anticuerpo terciario estreptavidina-peroxidasa, durante 40 minutos, a temperatura ambiente, en cámara húmeda.

13-Lavado con PBS durante 5 minutos.

14-Coloración con DAB (diaminobencidina), cromógeno de color marrón que destaca el complejo antígeno-anticuerpo, durante 10 minutos.

15- Lavado con PBS durante 5 minutos.

16- Contrastado con Hematoxilina de Meyer durante 5 minutos

17- Lavado en agua corriente.

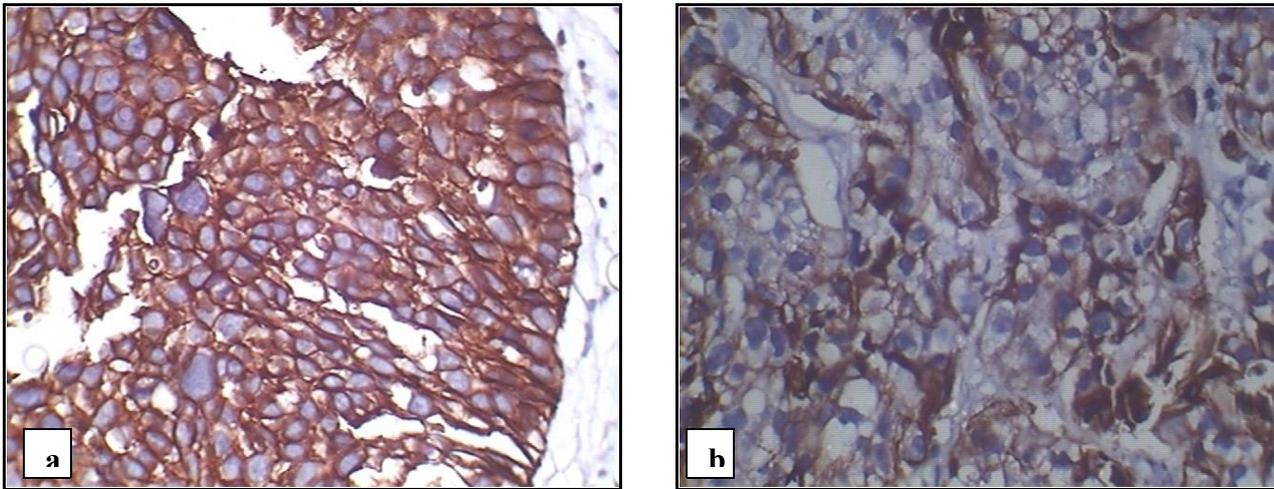
18- Deshidratación

19- Aclaramiento en xilol y montaje de cubreobjeto.

La interpretación de expresión de E- Caderina se realizó siguiendo la metodología utilizada en las publicaciones de Byrne, Rieger-Christ y Syrigos (20-150-167); en estos trabajos se describen 2 tipos de patrón de expresión de E-Caderina, un patrón normal u homogéneo y un patrón anormal o heterogéneo, caracterizados de la siguiente manera:

- patrón normal (u homogéneo): se considera patrón normal cuando la marcación posee expresión membranosa en forma difusa (mayor al 90 % de las células), similar a la de células uroteliales normales (Figura nº 7-a).
- patrón anormal (o heterogéneo): Se determina cuando la expresión de E-Caderina es focal (áreas positivas y negativas), de localización citoplasmática (no membranosa) o tinción negativa, con ausencia total de inmunorreactividad

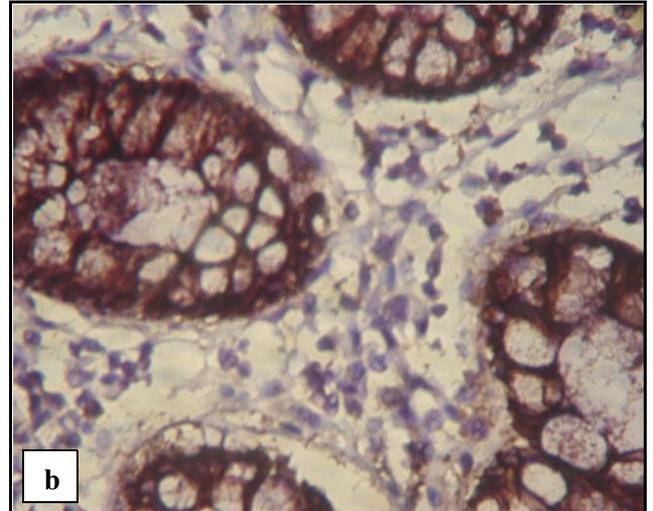
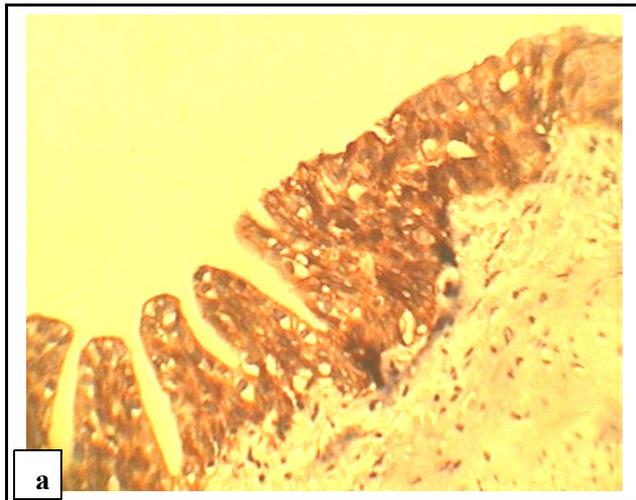
(figura nº 7-b).



**Figura nº 7. Patrones de expresión de E-Caderina de tumores de vejiga urinaria (técnica de peroxidasa, antiperoxidasa) a- Inmunotinción de E-Cd en carcinoma urotelial, con expresión membranosa difusa (patrón homogéneo) (x 100). b- Carcinoma urotelial con expresión de E-Caderina focal (patrón heterogéneo) (x 100).**

En algunos especímenes de RTU vesical se reconoce adyacente al tumor urotelio normal que expresa E-Cd con un patrón considerado homogéneo o normal (Figura nº 8-a), al que se considera un control interno positivo de la inmunotinción. Además se utilizó como control mucosa intestinal normal, con expresión de fenotipo homogéneo y conocido, a fin de asegurar una tinción segura y reproducible de E-Cd. (Figura nº 8- b). Se efectuó también control negativo con mucosa intestinal normal, al que se omitió la aplicación de anticuerpo primario y reemplazado por anticuerpo normal de ratón.

La técnica de inmunohistoquímica fue llevada a cabo por el equipo de histotecnólogas del laboratorio del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Córdoba. El estudio microscópico e interpretación de los preparados histológicos se realizó en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Córdoba, sala de microscopía, y en el Laboratorio de Patología de Clínica Sucre, con utilización de microscopio óptico triocular Olympus (CH2) con incorporación de equipo de microfotografía digital (Motic).



**Figura nº 8-a. Urotelio normal presente en el espécimen de RTU vesical, con expresión homogénea de E-Caderina utilizado como control positivo interno. Nótese la fuerte inmunorreactividad membranosa y citoplasmática en todo el espesor del urotelio (x 40) Figura nº 8-b. Caso control de mucosa colónica con expresión homogénea de E- Caderina con patrón membranoso (x 100).**

**2.5. Análisis estadístico:** Se realizaron pruebas de significación estadística (determinación de p-valor) entre las variables morfológicas de grado y estadio tumoral, y el patrón de expresión de E-Cd; se aplicaron también estas pruebas de significación en las distintas formas de evolución de tumores superficiales de vejiga urinaria tales como recidivas, recidivas tempranas y progresión y, por método de regresión logística con estimación de variables independientes (edad, sexo, tabaquismo y patrón de expresión de E-caderinas). Se analizaron además intervalos de confianza (Odd ratio), que nos proporciona información acerca de la fuerza de una asociación entre dos variables independientes.

El análisis de número de recidivas en relación a distintas variables (sexo, tabaquismo, grado, estadio y patrón de expresión de E-Cd) se realizó con modelo de regresión Poisson.

Para el análisis de los desenlaces dependientes del tiempo, tiempo libre de progresión, se utilizó el método de regresión modelo de Cox en conjunto con variables independientes: sistemas de clasificación de tumores (OMS 1973 y clasificación de Consenso) y estadio tumoral (según sistema de UICC), en relación a patrón de expresión de E- Caderinas.

Colaboró en esta sección del estudio el Ingeniero Julio Di Rienzo, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Nacional de Córdoba.

## Capítulo 3

# **RESULTADOS**

## **CAPITULO 3: RESULTADOS**

### **3.1. Descripción del grupo de estudio**

Se estudiaron especímenes tumorales obtenidos por RTU vesical de 46 pacientes, 31 hombres (67 %) y 15 mujeres (33 %), con promedio de edad de 67,3 años (rango de edad entre 35 y 94 años).

En cada caso se registraron los principales factores de riesgo de cáncer vesical, tales como tabaquismo, exposición ocupacional y consumo de analgésicos (fenacetina). Se constató que 31 pacientes (67 %) son fumadores, de los cuales 25 (54 %) son hombres y 6 (13 %) son mujeres. Entre el grupo de 15 pacientes no fumadores (33 %), predominan las mujeres (60%). A través de la historia clínica, no pudieron establecerse datos referidos a la exposición ocupacional de riesgo o al consumo de fenacetina.

La hematuria fue la presentación clínica dominante en el 100 % de los casos, en tanto que en sólo 5 casos (10,8 %) se agregaron síntomas irritativos (incluyendo urgencia, frecuencia y disuria) (10,8 %).

Macroscópicamente, los tumores de nuestra serie mostraron un amplio predominio de patrón de crecimiento papilar, simple o múltiple, presente en 43 casos (93,4%), todos exofíticos a excepción de uno, con crecimiento endofítico. 3 casos tuvieron patrón de

crecimiento sólido exofítico.

Según los hallazgos cistoscópicos, 30 casos (65,2 %) se presentaron como lesión tumoral única, en 15 casos como lesiones múltiples (32,6 %) y en un caso (2 %), como lesión mucosa difusa con patrón vellosos.

### 3.2. Hallazgos histológicos.

#### 3.2.1. Grado tumoral

Los tumores fueron clasificados acorde a los criterios de la OMS (1973) <sup>(116)</sup> en grados 1, 2 y 3, y se correlacionó con la clasificación de Consenso OMS-ISUP (1999) <sup>(49)</sup> (Figura 9, a y b).

Acorde a la clasificación de OMS, el examen histopatológico demostró la distribución en distintos grados (GI, GII y GIII), tal como lo muestra la tabla nº 2. Asimismo, la distribución de grado tumoral interpretado según la Clasificación de Consenso OMS/ISUP <sup>(49)</sup> queda expresada en la tabla nº 3. Cabe destacar que las lesiones clasificadas como NPBPM (neoplasia papilar de bajo potencial maligno) según clasificación de Consenso fueron considerados inicialmente carcinomas grado 1 (OMS).

**Tabla nº 2-** Grado tumoral (según clasificación de OMS) de tumores superficiales de vejiga urinaria

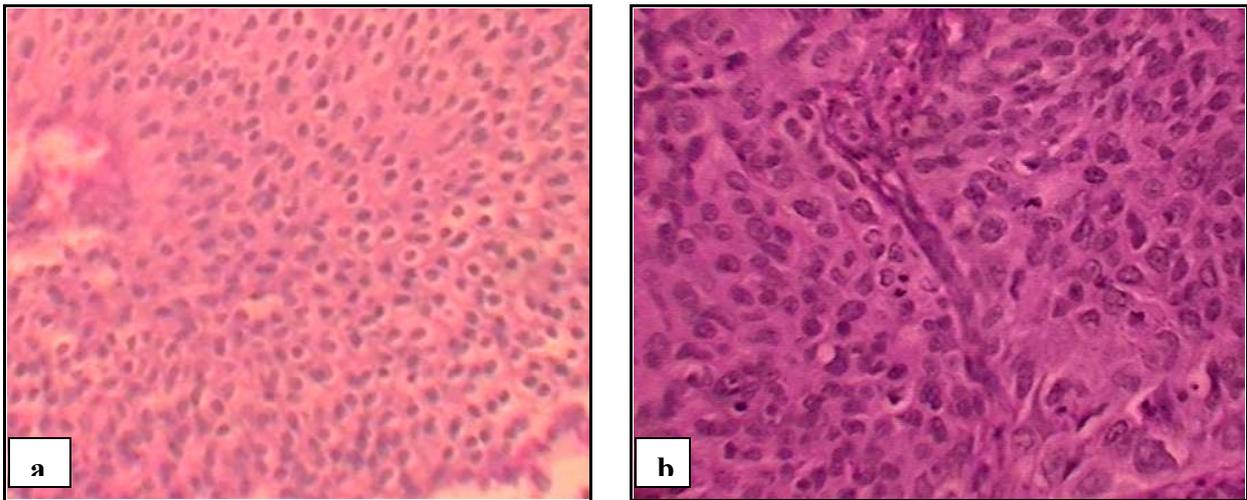
Grado tumoral (OMS)	Nº de casos	%
G I	10	22
G II	27	58
G III	9	20
Total	46	100

**Tabla nº 3-** Grado tumoral (según ISUP) de tumores superficiales de vejiga urinaria

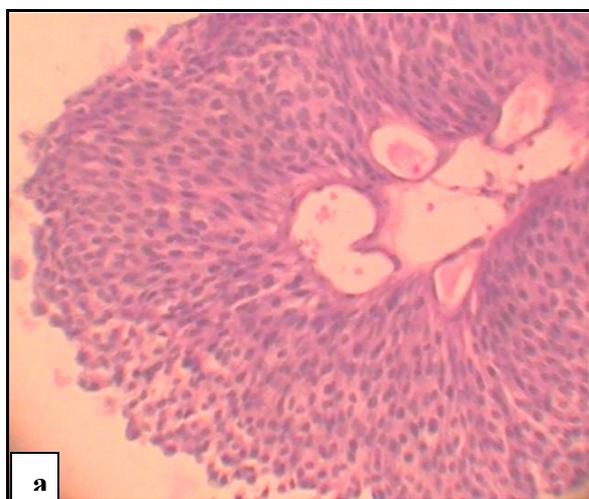
Grado tumoral (ISUP)	nº de casos	%
NPBPM	2	4
Carcinoma de bajo grado	22	48
Carcinoma de alto grado	22	48
Total	46	100

### 3.2.2. Estadio tumoral

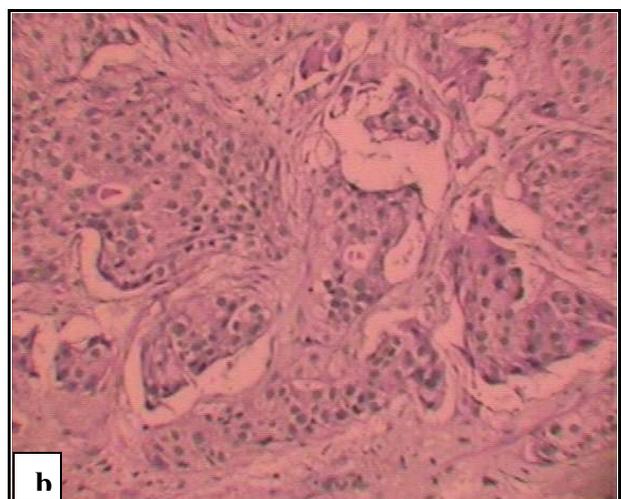
La valoración de la extensión de invasión de tumores superficiales (no músculo-infiltrantes) se realizó siguiendo los criterios de la UICC (TNM, 2002) (25), considerándose tumores no infiltrantes de lámina propia (estadio pTa, figura nº 10 a), y tumores infiltrantes de lámina propia, estadio pT1, (figura nº 10 b). 22 casos (48 %) fueron tumores papilares no infiltrantes de lámina propia (pTa) y 24 tuvieron infiltración de lámina propia (pT1).



**Fig nº 9.** a- Carcinoma urotelial grado 1. Finas papilas recubiertas por urotelio con polaridad conservada en casi todo el espesor. Los núcleos son de cromatina fina, sin nucleolos, de tamaño nuclear similar al urotelio normal; las mitosis son muy escasas. (Hematoxilina-Eosina x 100). b- Carcinoma urotelial grado 3, neoplasia con patrón de crecimiento sólido, con polimorfismo nuclear y pérdida de la polaridad; figuras de mitosis frecuentes (Hematoxilina-Eosina x 100).



VB



44

**Figura nº 10.** Profundidad de infiltración de carcinoma urotelial de vejiga urinaria, no músculo-infiltrantes. a- Carcinoma urotelial con patrón de crecimiento papilar que no infiltra lámina propia (Hematoxilina-Eosina, x 40). b- Carcinoma urotelial con invasión de lámina propia (Hematoxilina-Eosina, x 100).

Como se recomienda en la literatura, se tuvo en cuenta que la capa muscular propia libre de tumor esté representada en espécimen quirúrgico, a fin de asegurar estadio T1 infiltrante de lámina propia. Se consignó en los tumores infiltrantes de lámina propia (T1) la presencia de invasión linfovascular (figura 11-b), hecho con significación pronóstica adversa, si bien no está contemplado en el sistema de estadificación (2,15).

### 3.2.3. Otras características:

En nuestra serie, se constató CIS asociado a tumor superficial de vejiga en 8 pacientes, que representan 17,4 % de los casos (figura nº 11 a). En 5 de los casos estuvo asociado con carcinoma de alto grado (G III), con infiltración de lámina propia (pT1). Asimismo se constató permeación linfovascular en 2 casos (4,3 %), (figura nº 11 b).

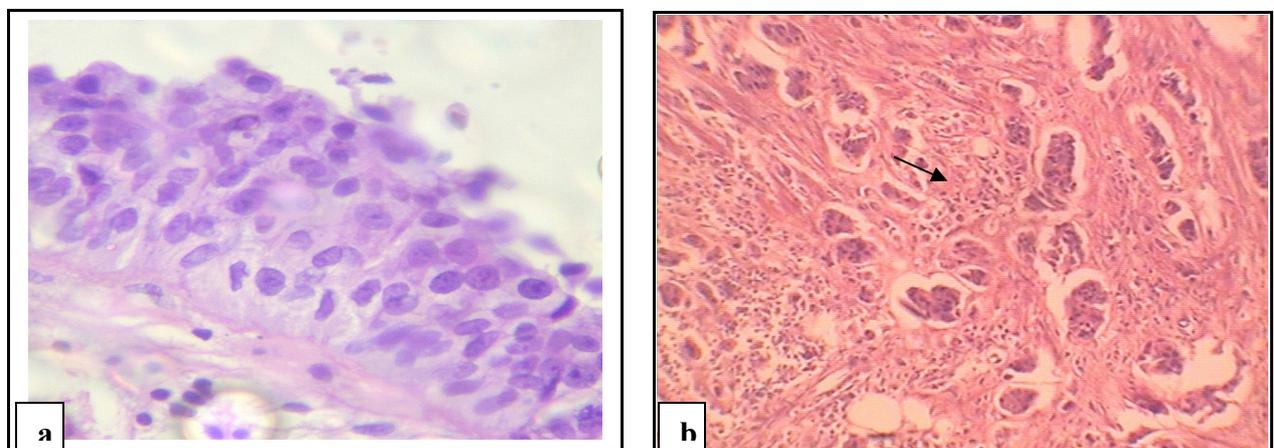


Figura nº 11 a- Carcinoma in situ (CIS): Lesión urotelial plana con pérdida de la ordenación celular y de la relación núcleo-citoplasmática, grandes núcleos de cromatina gruesa y nucleolos, con tendencia a la dehiscencia celular (Hematoxilina-Eosina, x 400). b- Carcinoma urotelial con permeación tumoral de vasos sanguíneos en lámina propia (flecha) (Hematoxilina-Eosina, x 100).

## 3.3. Evolución de la enfermedad

Se realizó seguimiento clínico posterior a la primera manifestación de la enfermedad en la totalidad de los 46 pacientes, con tiempo promedio de 81 meses, con seguimiento máximo de 130 meses.

En el seguimiento se determinó que 15 pacientes no tuvieron recurrencia; en la recidiva de enfermedad de los 31 casos restantes, 8 casos tuvieron progresión de estadio. Cuatro pacientes de nuestra serie fallecieron, dos como consecuencia de progresión y diseminación sistémica y dos por causas ajenas a la enfermedad.

### 3.3.1. Recidiva (número y lapso de recidivas)

En el seguimiento de estos pacientes se constató recidivas del tumor en 31 casos (67 %). 15 pacientes (48,3 %) fueron estadio pT1. De los 15 pacientes que no recidivaron, 9 fueron estadio pT1 en la manifestación primaria.

De los pacientes con recurrencia, 14 tuvieron recidiva tumoral en sólo una oportunidad (45 %), mientras que 17 pacientes (55 %) recidivaron en 2 ó más oportunidades.

Con respecto al lapso de recidiva (tiempo de aparición de recidiva posterior a la manifestación del primer tumor), de 31 pacientes recidivados, 18 lo hicieron en forma temprana (antes de 12 meses) y 13 en forma tardía (después de 12 meses).

### 3.3.2. Progresión (lapso)

Se constató progresión tumoral en 8 pacientes (26 %), de los cuales 2 progresaron de estadio no infiltrante de lámina propia a infiltración de la misma, y 6 progresaron de tumores infiltrantes de lámina propia a infiltración de muscular. 6 pacientes tuvieron progresión temprana (antes de 12 meses de la resección del primer tumor) y 2 pacientes progresión tardía (más de 12 meses).

## 3.4. Descripción de los hallazgos de Inmunomarcación con E-caderinas:

En nuestro estudio los controles positivos y el urotelio vesical normal adyacente al tumor exhibieron tinción para E-Cd preservada en todas las células transicionales, incluyendo las células superficiales (en "paraguas").

En los 46 tumores vesicales superficiales estudiados la expresión de E-caderinas fue con patrón membranoso normal (u homogéneo) en 18 casos (39 %) y anormal o heterogéneo en 28 (61 %). Ninguno de los especímenes mostró marcación VB

completamente negativa. Se demostró una relación no significativa entre patrón de expresión de E- caderinas y sexo (p: 0,748).

### 3.4.1. Grado tumoral y expresión de E- Caderinas:

Se relacionó grado tumoral según clasificación de OMS y de ISUP, con patrones de expresión de E- caderinas (figura nº 9). En los tumores categorizados según clasificación en grados de OMS, se demostraron los siguientes resultados: de 10 casos grado I, 9 (90 %) expresaron patrón homogéneo de tinción de caderinas, y sólo un caso expresó marcación membranosa heterogénea. La expresión heterogénea membranosa predominó, en tanto, en los tumores grado 2 (63 %, 17/27 casos) y en el 100 % (9 casos) de tumores grado 3 (Tabla nº 4). La asociación de expresión de E-caderinas con patrón heterogéneo (pérdida de expresión) tuvo una significativa asociación con tumores grado III, según clasificación de OMS (p= 0,003).

**Tabla nº 4-** Correlación de patrones de expresión de E-caderina con grado tumoral (clasificación de OMS) de tumores superficiales de vejiga urinaria

Grado tumoral (OMS)	Nº de casos (n: 46)	Expresión de E-Caderinas	
		Patrón homogéneo	Patrón heterogéneo
I	10	9 (90 %)	1 (10 %)
II	27	10 (37 %)	17 (63 %)
III	9	0	9 (100 %)
Total	46	19 (41,3 %)	27 (58,7 %)

P=0,003

Según la clasificación de tumores de vejiga urinaria de ISUP, se relacionó con expresión de E-Caderinas de la siguiente manera: 2 casos de neoplasia papilar de bajo potencial maligno (NPBPM) expresaron patrón homogéneo de tinción, mientras que 12 casos de carcinomas de bajo grado y 5 casos de carcinomas de alto grado revelaron patrón homogéneo, con alta expresión de patrón heterogéneo en esta última condición (77,2 %) (p=0,02) (Tabla nº 5).

**Tabla nº 5-** Correlación de patrones de expresión de E-caderina con grado tumoral (clasificación de Consenso) de tumores superficiales de vejiga urinaria

Grado tumoral (ISUP)	Nº de casos (n: 46)	Expresión de E- Caderinas	
		Patrón homogéneo	Patrón heterogéneo*
NPBPM	2	2 (100 %)	0
Ca. De bajo grado	22	12 (54 %)	10 (45 %)
Ca. De alto grado	22	5 (22,7 %)	17 (77,2 %)
Total	46	19 (41,3 %)	27 (58,7%)

\*p= 0,02.

### 3.4.2. Estadio tumoral y expresión de E-Cd:

Distinguimos 2 categorías de estadio en los tumores no-músculo infiltrantes, según UICC: Tumores no invasores de lámina propia (Ta) y tumores con infiltración de lámina propia (T1). La inmunomarcación reveló predominio de patrón homogéneo en tumores estadio Ta (60 %), en tanto que la expresión heterogénea predomina en tumores estadio T1 (79 %) (p= 0,02) (Tabla nº 6).

**Tabla nº 6-** Correlación de patrones de expresión de E-caderina con estadio (Ta- T1) de tumores superficiales de vejiga urinaria

Estadio tumoral (TNM. UICC)	Nº de casos (n: 46)	Expresión de E- Caderinas	
		Patrón homogéneo	Patrón heterogéneo*
Ta	22	13 (59 %)	9 (41 %)
T1	24	5 (21 %)	19 (79 %)

\*p= 0,02.

Ta: Tumor que no infiltra lámina propia -T1: Tumor que infiltra lámina propia

### 3.4.3. Otras características clínico-patológicas y expresión de E-Cd:

Se analizó la asociación de carcinoma in situ (CIS) mediante modelo logístico, sin demostración de relación estadísticamente significativa con distintas variables consideradas: sexo, tabaquismo, grado tumoral (según OMS e ISUP), estadio y expresión de caderinas.

En la tabla nº 7 resumimos las distintas características patológicas de los tumores superficiales de vejiga urinaria en relación al patrón de tinción de E- Caderinas.

### 3.4.4. Recidiva de carcinoma superficial de vejiga urinaria en relación a patrón de VB

expresión de E- Caderinas:

3.4.4.1. Presencia de recidivas: De 31 pacientes con recidiva de la enfermedad, 20 (64 %) expresaron caderinas con distribución heterogénea y 11 (36 %) con expresión homogénea. En aquellos tumores que no recidivaron (15 casos), 7 tuvieron expresión heterogénea de E- Cd, y 8 expresión homogénea (Tabla nº 8).

**Tabla nº 7-** Patrón de tinción de E-Caderinas acorde a características clínico-patológicas de tumores superficiales de vejiga urinaria

	N° de pacientes (%)	Expresión homogénea E-Caderinas (%)	Expresión heterogénea E- Caderinas (%)	p-valor
Total	46	18 (39)	28 (61)	
Sexo				0,748
Mujeres	15 (33)	8 (53.3)	7 (46.7)	
Hombres	31 (67)	10 (32.25)	21 (67.75)	
Asociación a tabaquismo	32 (70)	14 (43.75)	18 (56.25)	-
Grado Patológico (OMS)				0.003
G 1	10 (21.8)	8 (80)	2 (20)	
G 2	27 (58.7)	10 (37)	17 (63)	
G 3	9 (19.5)	0	9 (100)	
Grado Patológico (ISUP)				0.02
NPBPM	2 (4.4)	2 (100)	0	
Ca. De bajo grado	22 (47.8)	11 (50)	11 (50)	
Ca. De alto grado	22 (47.8)	5 (22.7)	17 (77.3)	
Estadificación patológica (UICC)				0.02
Pta	22 (47.8)	13 (59)	9 (41)	
pT1	24 (52.2)	5 (21)	19 (79)	
CIS	8 (17.4%)	2 (25)	6 (75)	-
Invasión vascular	2 (4.4)	0	2 (100)	-

La evaluación empleando un modelo de regresión logística con variables independientes determinó que la expresión anormal de E-caderinas tiene valor pronóstico con respecto al desarrollo de recidivas, comparado con tumores con inmunexpresión normal (Odd ratio: 7, test de Wald: LI: 0,91, LS: 57.0, p= 0,0408).

Otra variable que mostró significación estadística asociada a la presencia de recidivas fue el grado histológico según la clasificación de ISUP, ya que los tumores de alto grado poseen valor pronóstico significativo sobre las recidivas, comparado con tumores de bajo grado (Odd ratio: 14, test de Wald: LI: 0,77, LS: 281,3. p= 0.0396).

En nuestro análisis, las variables que no tienen efectos estadísticamente

significativos con respecto a recidivas son: Sexo, edad, tabaquismo, grado OMS, estadio (pTa-pT1).

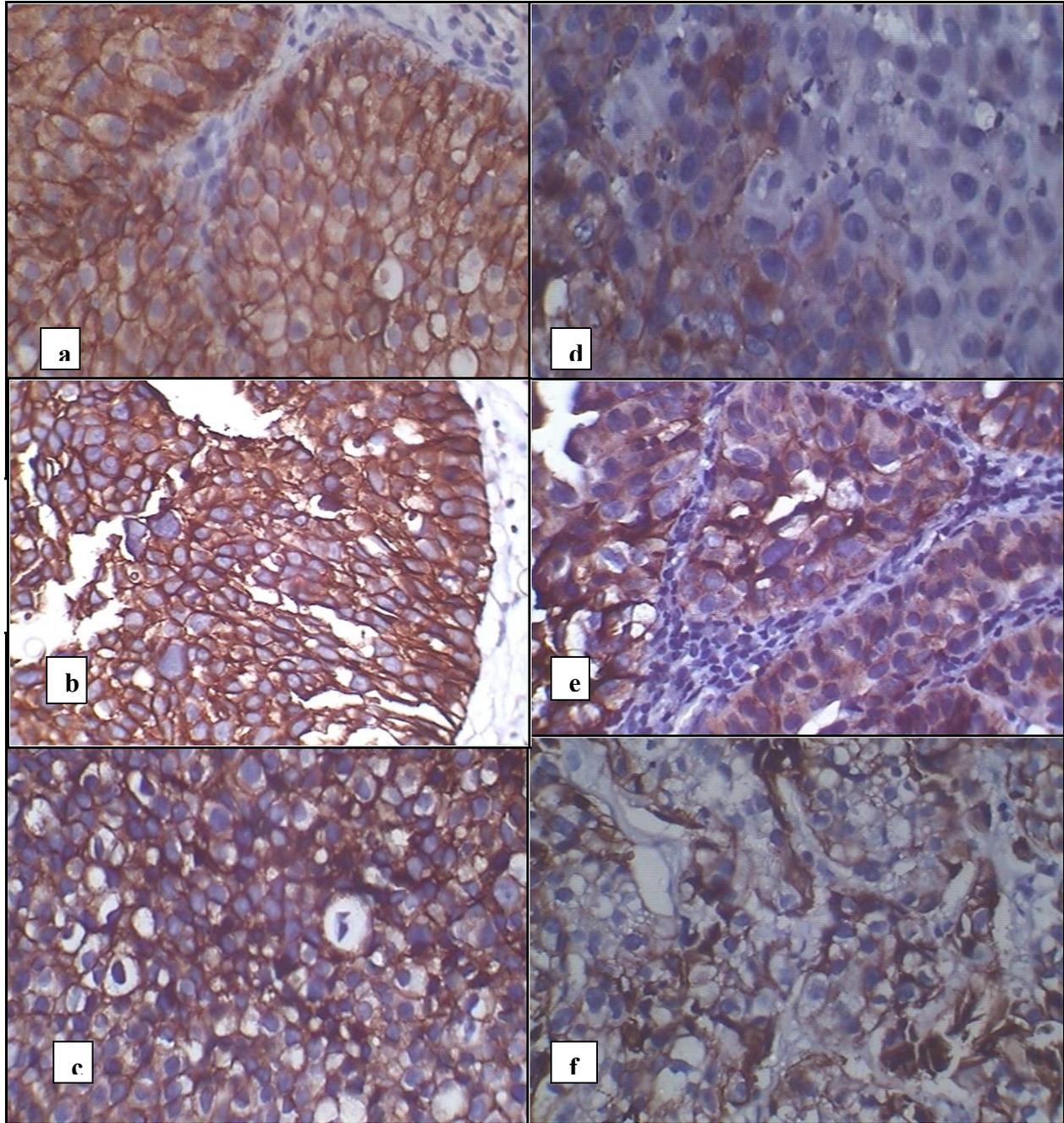


Figura nº 9- Carcinoma urotelial de vejiga urinaria no músculo infiltrante con inmunotinción de E-Caderina (E-Cd), tinción con peroxidasa-antiperoxidasa: a, b y c (izquierda) con patrón de expresión homogéneo o normal, nótese la intensa tinción membranosa y citoplasmática difusa (x 100, x 60 y x 100, respectivamente); d, e y f (derecha) con expresión heterogénea o anormal, donde la disminución de expresión de E-Cd se manifiesta por inmunotinción intermedia a débil VB

comparado con las anteriores, con ausencia focal de marcación (x 100).

3.4.4.2. Número de recidivas: Se verificó en el seguimiento de los pacientes que 45% (14 pacientes) recidivaron en solo una oportunidad, mientras que 17 pacientes (55 %) tuvieron múltiples recidivas. Los 14 casos que recidivaron sólo una vez poseen patrón anormal de marcación de caderinas en 8 casos (57 %) y patrón normal u homogéneo en 6 casos (43%). Los 17 pacientes con mas de una recidiva, 5 expresaron patrón homogéneo (29,4 %) y 12 (70,6 %) patrón heterogéneo (Tabla nº 9).

Se ajustó un modelo de regresión Poisson en relación a expresión de caderinas y número de recidivas, que mostró que la expresión anormal (heterogénea) de E-caderinas en los tumores adquiere valor pronóstico con respecto a la aparición de dos ó mas recidivas tumorales, comparado con tumores con expresión normal (homogénea) (LI: 0,13, LS: 1, 42, p= 0,0162). En el análisis de otras variables independientes, se observó que la condición de sexo femenino en relación a dos o mas recidivas nos da un valor estadísticamente significativo (p=0,01). Asimismo, el grado tumoral II (según OMS) en relación a dos o mas recidivas, nos da valor cercano a tornarse significativo (p=0,05), lo que sugeriría una probable tendencia a la asociación.

Se evaluaron en relación a número de recidivas otras variables independientes tales como tabaquismo, grado (según ISUP) y estadio, sin valores de significación estadística.

**Tabla nº 8-** Recidivas de tumores superficiales de vejiga urinaria en relación a expresión de E-Caderinas

	Nº de casos (n: 46)	Expresión de E- Caderinas	
		Patrón homogéneo	Patrón heterogéneo
Recidivas	31 (67,3 %)	11 (36 %)	20 (64 %)
No recidivas	15 (32,6%)	8 (53 %)	7 (47 %)
Total	46	19 (41,3 %)	27 (58,6 %)

p=0,04

3.4.4.3. Recidivas tempranas y tardías en relación a patrón de expresión de E-Cd: de 18 pacientes que recidivaron en forma temprana, antes de 12 meses de la aparición del primer tumor, 4 (22%) expresaron patrón homogéneo de E- Cd, y 14 (78 %) patrón heterogéneo. 713 pacientes recidivaron tardíamente (lapso de tiempo mayor a 12

meses luego de aparición del primer tumor), con expresión de patrón homogéneo en 7 casos (54 %) y patrón heterogéneo en 6 casos (46 %) (Tabla nº 10).

**Tabla nº 9-** Relación entre número de recidivas de carcinoma superficial de vejiga urinaria y expresión de E-caderina

	Nº de casos (n: 31)	Expresión de E- Caderinas	
		Patrón homogéneo	Patrón heterogéneo
Una recidiva	14 (45 %)	6 (43 %)	8 (57 %)
Dos o mas recidivas*	17 (55%)	5 (29,4 %)	12 (70,6 %)
Total	31	11(35,4 %)	20 (64,5 %)

\*p= 0,0162

**Tabla nº 10-** Relación entre recidivas tempranas y tardías de carcinoma superficial de vejiga urinaria y expresión de E-caderinas

	Nº de casos (n: 31)	Expresión de E- Caderinas	
		Patrón homogéneo	Patrón heterogéneo
Recidivas tempranas (lapso menor a 12 meses)	18 ( 58%)	4 (22 %)	14 (78 %)
Recidivas tardías (lapso mayor a 12 meses)	13 (42%)	7 (53,8 %)	6 (46 %)
Total	31	11 (35,4 %)	20 (64,5 %)

p= 0,07

La aplicación de modelo logístico mostró asociación estadísticamente significativa de expresión de patrón heterogéneo de E-caderinas con ocurrencia de recidivas tempranas (Odd ratio: 16.08, 95 % intervalo de confianza: 1.40 a 184.20, p= 0,0084). No tiene significación pronóstica al respecto otras variables tales como edad o grado tumoral.

3.4.5. Progresión de carcinoma superficial de vejiga urinaria en relación a patrón de expresión de E- Caderinas:

3.4.5.1. Presencia de progresión: En nuestra serie se observó progresión tumoral en 8 casos, de los cuales 7 (87,5 %) mostraron expresión heterogénea de caderinas y 1 (12,5 %) expresión homogénea. Entre los 23 casos recidivados sin progresión, la expresión de E- caderinas tuvo patrón homogéneo en 10 casos (43,4 %) y expresión heterogénea en 13 casos (56,6 %). (Tabla nº 11). El análisis de la progresión de la enfermedad mediante modelo logístico mostró que la expresión de E-caderinas con VB

patrón heterogéneo posee asociación estadísticamente significativa con progresión de la enfermedad (Odd 16,  $p= 0,02$ ). Otras variables, tales como sexo, tabaquismo, grado, estadio y edad, no mostraron significación estadística con respecto a progresión.

**Tabla nº 11-** Relación entre progresión de carcinoma superficial de vejiga urinaria y expresión de E-Caderinas

	Nº de casos (n: 31)	Expresión de E- Caderinas	
		Patrón homogéneo	Patrón heterogéneo
Progresión	8 (26%)	1 (12,5 %)	7 (87,5 %)
No progresión	23 (74%)	10 (43,4 %)	13 (56,6 %)
Total	31	11 (35,4 %)	20 (64,5 %)

$P=0,02$

3.4.5.2. Progresión temprana y tardía: De 6 casos con progresión temprana (antes de 12 meses), 5 expresaron patrón heterogéneo (83,3 %) y 1 caso tuvo patrón homogéneo. En nuestra serie sólo tuvimos 2 casos con progresión tardía, con expresión de caderina distribuida en patrón homogéneo y heterogéneo ( $p= 0,07$ ) (tabla nº 12).

**Tabla nº 12-** Progresión temprana y tardía de tumores superficiales de vejiga urinaria en relación a expresión de E- caderinas

	Nº de casos	Patrón homogéneo de E-Cd	Patrón heterogéneo de E-Cd
Progresión temprana (lapso menor a 12 meses)	6 ( 75%)	1 (16,6 %)	5 (83,3 %)
Recidivas tardías (lapso mayor a 12 meses)	2 ( 25%)	1( 50 %)	1 (50 %)
Total	8	2 (25%)	6 (75%)

$p=0,07$

La tabla nº 13 resume la expresión de E-Cd en relación a evolución clínica de tumores superficiales de vejiga urinaria, esto es, presencia de recidivas, número y lapso de recidivas, progresión y lapso de progresión.

3.4.6. Tiempo libre de progresión: Con respecto al tiempo libre de progresión, se utilizó un modelo de riesgo proporcional de Cox, que demostró:

- El grado tumoral de tumores superficiales de vejiga urinaria, según clasificación de OMS, posee efecto estadísticamente significativo ( $p= 0,01$ ).

No se demostró asociación significativa entre el estadio tumoral (según UICC) y el tiempo libre de progresión; asimismo, no se determinó efecto estadísticamente significativo entre el hábito de fumar y el tiempo libre de progresión (efecto marginal,  $p= 0,073$ ).

**Tabla n° 13-** Tumores superficiales de vejiga: relación de parámetros evolutivos (recidivas, número y lapso de recidivas, progresión y lapso de progresión) y expresión de E-Caderinas

	N° de pacientes (%)	Expresión Homogénea de E- Cd (%)	Expresión heterogénea de E-Cd (%)	p-valor
Recidivas				
Si	31 (67,3)	11 (36)	20 (64)	
No	15 (32,6)	15 (53)	7 (47)	
N° de recidivas				0,0162
Una recidiva	14 (45)	6 (43)	8 (57)	
Dos o mas	17 (55)	5 (29,4)	12 (70,6)	
Lapso de recidiva				0,07
Temprana	18 (58)	4 (22)	14 (78)	
Tardía	13 (42)	7 (54)	6 (46)	
Progresión				0,1
Si	8 (26)	1 (12,5)	7 (87,5)	
No	23 (74)	10 (43,4)	13 (56,6)	
Lapso de progresión				0,07
Temprana	6	1	5	
Tardía	2	1	1	

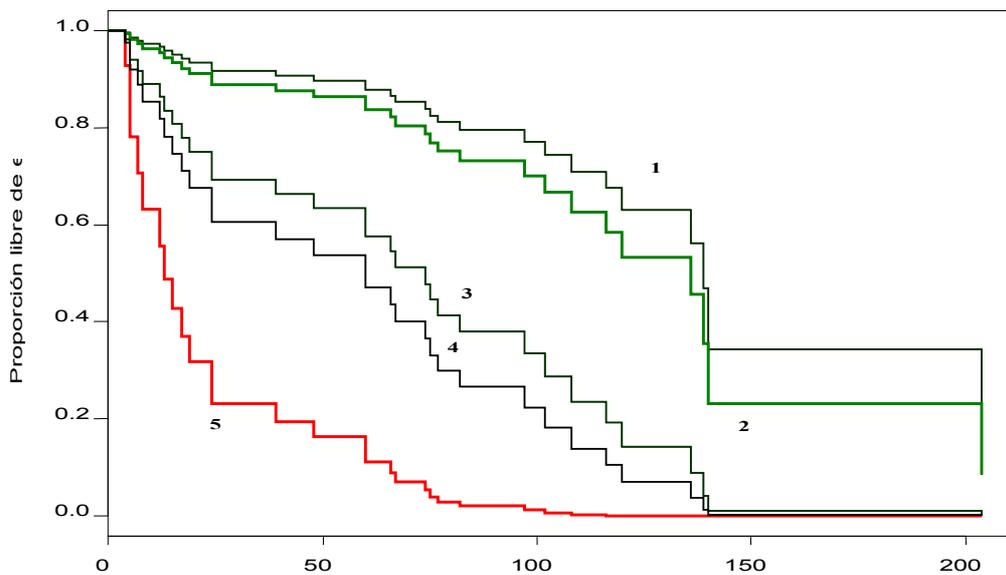
- El grado tumoral según clasificación de Consenso OMS/ISUP posee efecto estadísticamente significativo ( $p= 0.01$ ).

- La expresión anormal o heterogénea de E-Cd tiene efecto estadísticamente significativo ( $p= 0,02$ ).

La determinación del tiempo libre de progresión en modelo de riesgo proporcional de Cox (figura n° 10) señaló que los carcinomas uroteliales grado II (OMS), alto grado (según Consenso OMS/ISUP) y expresión heterogénea de E-Cd poseen menor sobrevida libre de progresión; la mayor sobrevida libre de progresión se observó en tumores con expresión homogénea de E-Cd, grado II (OMS), aunque, interesantemente, categorizados tanto como carcinomas de bajo y alto grado (según clasificación de Consenso). Podría considerarse un tercer grupo con sobrevida libre de progresión intermedia entre los ya descritos, integrado por aquellos pacientes con carcinoma urotelial con carcinomas de bajo grado (según Consenso OMS/ISUP), grado I y II (OMS).

No se demostró asociación significativa entre el estadio tumoral (según UICC) y el tiempo libre de progresión; asimismo, no se determinó efecto estadísticamente significativo entre el hábito de fumar y el tiempo libre de progresión (efecto marginal,  $p=0,073$ ).

**Figura n° 10:** Determinación de tiempo libre de progresión de carcinoma superficial de vejiga urinaria en relación a grado de diferenciación tumoral (según OMS y Consenso) y patrón de expresión de E-Cd (modelo de riesgo proporcional de Cox)



- 1-Carcinoma urotelial de bajo grado (Consenso), G II (OMS), con expresión homogénea de E-Cd
- 2-Carcinoma urotelial de alto grado (Consenso), G II (OMS), con expresión homogénea de E-Cd
- 3-Carcinoma urotelial de bajo grado (Consenso), G II (OMS), con expresión heterogénea de E-Cd
- 4-Carcinoma urotelial de bajo grado (Consenso), G I (OMS) con expresión heterogénea de E-Cd
- 5-Carcinoma urotelial de alto grado (Consenso), G II (OMS), con expresión heterogénea de E-Cd

## Capitulo 4

# **DISCUSIÓN**

## CAPITULO 4: DISCUSIÓN

**4.1. Consideraciones generales.** El cáncer vesical es 4-5 veces más frecuente en el hombre que en la mujer, no siendo esta distinta incidencia totalmente explicada por las diferencias en los hábitos de fumar y tipos de actividad laboral (los dos factores de riesgo mejor conocidos). En nuestra serie de carcinomas superficiales hubo predominio de sexo masculino (67 %), con relación varón-mujer de 3:1, similar a la reportada por distintas publicaciones (14-22-151).

La literatura refiere que el carcinoma vesical es más frecuente entre el 5° y 6° decenio de vida, con media de 65 años (14). El promedio de edad de nuestros pacientes fue de 67,3 años, (rango de edad entre 35 y 94 años). La única referencia estadística global de nuestro país es la aportada por el Atlas de Mortalidad por Cáncer (108), basado en los registros de la Dirección de Estadísticas de Salud del Ministerio de Salud de la Nación sobre las causas de defunciones ocurridas en las distintas Provincias en el periodo 1997-2001. Según las mismas, la tasa de mortalidad por cáncer de vejiga es del 4.8% en varones, no figurando entre las diez primeras causas en mujeres.

Se estima que el 33 % de las neoplasias vesicales se relacionan con el hábito de fumar, con aumento de riesgo en ambos sexos, aunque aparece mayor en las mujeres (14). En nuestra serie se constató que el 67 % de los pacientes fumaban, con amplio predominio del sexo masculino (54 %), mientras que las mujeres representan el 60 % en el grupo de pacientes no fumadores. El riesgo de cáncer de vejiga se incrementa con el aumento del número de cigarrillos consumidos por día, el mayor tiempo de exposición y la forma de inhalación. El estudio histológico de vejigas de fumadores revela atipia celular y engrosamiento de capa basal, a diferencia de pacientes no fumadores (14). Las razones por las que el cigarrillo causa cáncer vesical no han sido definitivamente establecidas, pero es altamente probable que esta asociación sea causada por las mismas arilaminas que producen cáncer asociado a algunas ocupaciones, especialmente 2-naftilamina y 4-aminodifenil (136). Los primeros estudios epidemiológicos sobre el cigarrillo y el cáncer de vejiga fueron efectuados a

mediados de la centuria pasada (65); aunque los métodos epidemiológicos y estadísticos han mejorado mucho desde aquellas comunicaciones, los estudios posteriores corroboraron las conclusiones de las mismas: los fumadores de cigarrillos incrementan su riesgo de padecer cáncer de vejiga dos a tres veces respecto a los no fumadores. Aunque el hábito de fumar aumenta claramente el riesgo de cáncer vesical en ambos sexos el riesgo aparece mayor en las mujeres. Una de las observaciones más sorprendentes de la epidemiología del cáncer vesical es que, a pesar del comprobado papel del cigarrillo en la producción del mismo, existen amplios grupos poblacionales con alto número de fumadores y elevados promedios de cáncer de pulmón en conjunción con bajos promedios de cáncer de vejiga (162).

En nuestro material se procuró establecer relación con otros factores de riesgo, tales como exposición ocupacional y consumo de fenacetina, pero no se lograron datos positivos a través de la historia clínica.

Se pudo comprobar que la hematuria fue el síntoma de presentación de la enfermedad en la totalidad de nuestros casos, coincidiendo con la literatura, que informa este síntoma como la presentación más común (más del 90 % de los casos). Los síntomas irritativos se describen en más del 20 % de los casos, mientras que en nuestra serie se manifiestan en 10 % de los pacientes (14-22).

La forma de presentación mas común en nuestra serie fue como tumor vesical simple, papilar y exofítico, coincidiendo con los datos aportados por la literatura (14-119). La documentación de tumor simple vs. múltiple es significativa, ya que los pacientes con tumores múltiples tienen mayor riesgo de recurrencia y progresión (14).

El carcinoma superficial de vejiga urinaria constituye un grupo heterogéneo de neoplasias uroteliales con distinta capacidad evolutiva y marcada tendencia a la recidiva y progresión tumoral, cuya historia natural no puede ser predecida con seguridad en base a un caso individual. El grado y estadio tumoral proveen la mayor información prospectiva, pero estos parámetros son insuficientes para inferir la conducta tumoral de un paciente en particular. En nuestra serie, la categorización de grado tumoral según la clasificación de OMS demostró un amplio predominio de Grado II (58 %), tal como relata Bostwick: “en manos de la mayoría de los investigadores, gran proporción de los casos caen dentro del grupo intermedio (grado II OMS)” (9). En relación a la evolución de la enfermedad, encontramos asociación significativa de grado

II con recidivas múltiples (p: 0,05), pero no con presencia de recidiva o recidiva temprana, así como tampoco con progresión de la enfermedad.

La clasificación de tumores vesicales de Consenso provee criterios detallados y terminología standard para determinar el grado de diferenciación, con lo que se espera mejorar la reproducibilidad interobservador. En nuestra serie, la distribución entre carcinomas de bajo y alto grado es similar (22 casos en cada categoría, representando cada una 48 % del total), con sólo 2 casos (4 %) de NPBPM. Hallamos asociación significativa entre carcinomas de alto grado y recidiva de la enfermedad (p: 0,03), pero no con respecto a recidivas múltiples y progresión.

En nuestra serie de casos de tumores superficiales, la distribución según estadio pTa y pT1 es de 48 % (22 casos) y 52 % (24 casos), respectivamente. El médico patólogo juega un importante rol en la confirmación diagnóstica de carcinoma superficial de vejiga urinaria, ya que debe determinar el nivel de infiltración neoplásica y ausencia de infiltración de capa muscular propia en especímenes de RTU vesical, siendo esta información un punto crucial para la decisión terapéutica; la estadificación patológica constituye uno de los principales requerimientos a que se enfrenta el patólogo en el momento del diagnóstico, que ciertamente puede presentar algunos aspectos dificultosos. El urotelio no siempre muestra una interfase estromal bien demarcada, y puede ser alterada por cirugía o terapia tópica. La muscular de la mucosa constituye una capa discontinua de tejido muscular presente en aproximadamente 70 % de los especímenes (biopsias de vejiga urinaria y material de RTU vesical); la infiltración de tejido correspondiente a muscular de la mucosa puede sobreestadificarse al interpretarse erróneamente como infiltración de muscular propia, con importante implicancia terapéutica en el manejo del paciente. La presencia de plexos vasculares a nivel de la muscular de la mucosa ayuda a su identificación e interpretación de nivel de infiltración, diferenciándola de muscular propia en especímenes de biopsias pequeñas y RTU vesical. Diversos autores enfatizan que la presencia de red vascular es un criterio útil para determinar nivel de muscular de la mucosa de vejiga urinaria, aún en ausencia de fibras musculares (2,14).

Encontramos que no hubo asociación significativa de estadio p T1 con respecto a distintos parámetros evolutivos (recidiva de la enfermedad, recidivas múltiples y progresión); asimismo, tampoco se demostró asociación significativa entre la

estratificación de estadios pTa- pT1 con la sobrevida libre de progresión (Ver figura nº 15).

El proyecto del Grupo de Colaboración Nacional de Cáncer de Vejiga (EE.UU.) estableció los factores que influyen la recurrencia y progresión de la enfermedad en una larga serie de pacientes con tumores Ta y T1 que no recibieron terapia adicional luego de la RTU (66). En ese estudio se determinó que el grado tumoral tuvo importante significado pronóstico para recurrencia y progresión, con 50% de recurrencias en pacientes con tumores grado I y II, pero con solo 2-10% de progresión; por el contrario, cerca del 80% de pacientes con grado III desarrollaron recurrencia y la mitad progresó a enfermedad invasiva dentro de los tres años. El estadio tumoral es predictivo de recurrencia y progresión, ya que solo el 30% de los estadios T1 permanecieron libres de tumor luego de 3 años sin terapia adyuvante, experimentando invasión muscular más de un tercio de los pacientes. La progresión, por el contrario, fue muy poco frecuente en los estadios Ta. Otros factores predictivos de recurrencia tumoral incluyen la presencia de neoplasia en la citología urinaria previa, múltiples lesiones vesicales, tamaño del tumor mayor a 3 cm y la existencia de displasia moderada o severa en áreas alejadas del tumor primitivo (22,37,103).

Un reciente meta análisis de la Organización Europea para la Investigación y Tratamiento del Cáncer (EORTC) sobre el impacto de la instilación de compuestos quimioterápicos antitumorales inmediatamente luego de la RTU del tumor en 748 pacientes con lesiones Ta y T1 y con un seguimiento medio de 3.4 años, mostró que aquellos con adyuvancia inmediata tuvieron un índice de recurrencia del 36.7%, contrastando con el 48.4% en los pacientes que no recibieron quimioterapia local (166). Este estudio no solo indica el valor de la quimioterapia local inmediatamente después de la RTU sino que corrobora que la tasa de recurrencia de tumores de bajo riesgo sin adyuvancia es sustancial. A similares conclusiones se había arribado en el estudio conjunto de la EORTC y el Consejo Médico de Investigación del Cáncer de Vejiga (MRC) (137).

Con algunas limitaciones, parece factible que los elementos de juicio considerados permiten establecer la historia natural de los tumores vesicales no invasivos y, por lo tanto, agrupar a los pacientes en niveles de riesgo. No obstante, esto no es aplicable todavía con las certezas deseables a cada paciente individualmente

considerado. Aún así, estas referencias clínicas y patológicas han permitido elaborar guías de orientación, como las confeccionadas por la American Urological Association (AUA) y la European Association of Urology (EAU) Esta última diferencia pacientes de bajo riesgo (único tumor Ta, G1, menor de 3cm) y de alto riesgo (T1, G3, multifocal y con CIS asociado), ubicando como de riesgo intermedio a las lesiones T1, G1-2 y mayor de 3 cm. (128).

#### **4.2. Aspectos de inmunomarcación con E-Cd:**

Hay creciente evidencia que sugiere que las alteraciones en las propiedades de adhesión de las células tumorales juegan un rol fundamental en el desarrollo y progresión de diversas neoplasias epiteliales. La pérdida o disminución de la expresión de Caderina E (E-Cd) ha sido reportada en una variedad de neoplasias de humanos y experimentales, tales como mama, esófago, estómago, páncreas, próstata y vejiga (31, 84, 124, 131, 139, 173, 180). La pérdida de expresión de E-Cd ha sido asociada con alto grado tumoral, aneuploidía, invasión local, metástasis, y aumento de recurrencia de tumores de próstata (153). En el cáncer de mama, Qureshi y col. comunican que hay correlación entre la expresión de E-Cd y el tipo histológico, señalando que la tinción negativa de E-Cd confirma el diagnóstico de carcinomas lobulares, pero, a diferencia de otras neoplasias, no se asocia a parámetros pronósticos (142). La expresión de E-Cd se ha correlacionado también con diferenciación, progresión y metástasis en adenocarcinoma colorrectal y gástrico. Sin embargo, no todos los estudios que relacionan la pérdida de expresión de E-Cd con progresión han alcanzado correlación estadística, tal como ocurre en cáncer rectal (153).

La mayoría de las publicaciones destaca el uso de E- Cd en tumores vesicales avanzados, con infiltración de capa muscular, enfatizando el rol de E-Cd en la progresión tumoral y metástasis. Numerosos reportes destacan la expresión anormal de E-Cd en tumores G III (OMS) o de alto grado (Clasificación de Consenso) asociado a estadio tumoral avanzado.

En el presente trabajo, la evaluación de expresión de E-Cd se limita a tumores vesicales superficiales o no músculo-infiltrantes, o sea, en estadio p Ta ó p T1, excluyendo a los tumores músculo-infiltrantes, que sólo fueron tomados como referencia para control de la técnica. Se relaciona el patrón de expresión de moléculas

de adhesión con diferentes características clínico patológicas y con evolución (recidivas y progresión) tumoral.

Como ya hemos expresado anteriormente, se describen 2 tipos de patrón de tinción de E-Cd: un patrón normal y un patrón anormal (20-150-167). Se considera expresión de patrón normal u homogéneo cuando, a semejanza del urotelio normal, más del 90 % de las células expresan la molécula de E-Cd, localizada en la membrana celular (patrón membranoso). Se distingue patrón anormal (o heterogéneo) cuando la expresión de E-Cd es focal (áreas positivas y negativas), de localización no membranosa (citoplasmática) o con tinción negativa (completa ausencia de inmunorreactividad).

La E-Cd fue expresada, con los 2 patrones ya mencionados, en la totalidad de los casos (46) de tumores superficiales de vejiga urinaria que integran nuestro estudio, ninguno tuvo expresión negativa.

En 27 casos (59 %) de nuestra serie de tumores superficiales de vejiga urinaria hubo expresión heterogénea o anormal de E-Cd, manifestando de este modo la reducción o pérdida de adhesión. Los tumores superficiales de vejiga urinaria en general son propensos a retener la expresión normal de E-Cd, tal como lo expresa Byrne y col., quienes reportaron expresión de E-Cd anormal en 50 % de los tumores superficiales (20). Estos hallazgos son coincidentes con la publicación de Ross y colegas, quienes determinaron que los carcinomas superficiales presentan expresión de E-Cd anormal en 49 % de los casos estudiados (153).

4.2.1. Grado de diferenciación tumoral y expresión de E-Cd: El grado de diferenciación y el nivel de infiltración y estadio constituyen en la práctica los marcadores más utilizados para conocer la biología de estos tumores, con las limitaciones a que se han hecho referencia previamente. A pesar de ello, existen algunos indicadores de cambios moleculares a nivel celular asociados a los fenómenos tumorales de penetración e invasión que aparecen sumamente promisorios y por lo tanto susceptibles de investigación. Algunos de estos nuevos marcadores, no obstante su indudable valor teórico, no parecen responder a las expectativas iniciales desde que no conforman predictores independientes de grado/ estadio.

La categorización de nuestros casos en grado tumoral según la clasificación de OMS y de Consenso OMS-ISUP, demostró asociación significativa con el patrón de expresión de E-Cd. Observamos que los tumores categorizados como G I presentaron

expresión de E-caderinas con patrón homogéneo en una amplia mayoría de los casos (9 casos, 90%), en tanto que los tumores G II y G III expresaron patrón heterogéneo (anormal) en 17 (63 %) y 9 casos (100 %), respectivamente, con cifras estadísticamente significativas ( $p=0,003$ ) (Ver tabla nº4). La expresión de ambos patrones de inmunotinción de E-Cd, esto es, tanto el patrón homogéneo o normal como el heterogéneo, por parte de los carcinomas categorizados como GII reflejaría las disímiles conductas evolutivas que posee este grupo tumoral.

Nuestros resultados concuerdan con la mayoría de las publicaciones, que han reportado progresiva disminución de expresión de E-Caderina con respecto al aumento del grado tumoral. Rieger- Christ y col. reportaron expresión normal de EC en 100 % de tumores GI, 92 % en tumores G II y 44 % de G III (150). Syrigos y col. encontraron expresión normal u homogénea de E-caderina en 75 % de tumores GI, en tanto que los tumores G II-III expresaron patrón de tinción anormal o heterogénea en 97 % (167). Ross y colaboradores también mostraron correlación entre grado tumoral y expresión de E-Caderina, con expresión normal en 66 % de los tumores grado I, 45% de tumores grado II y 33 % de los tumores pobremente diferenciados grado III, con valores estadísticamente significativos ( $p < 0,02$ ) (153). Syrigos y col. reportaron inmunoreactividad anormal de E-Cd en relación a diferenciación tumoral y estadio avanzado, destacándose que la sobrevida mayor a 5 años fue significativa en aquellos pacientes con tinción membranosa preservada, en comparación con aquellos pacientes con expresión anormal de E-Cd (167). Ross y col. evaluaron la expresión de E-Cd en 55 casos de tumores vesicales, concluyendo que la pérdida de expresión de E-Cd en tumores de alto grado está asociado en forma significativa a invasión de la pared vesical, sugiriendo que la expresión de E- Cd puede tener valor clínico en la formulación de pronóstico y plan terapéutico en pacientes con esta patología (153). Nakopoulou y col. destacan el valor de la expresión anormal de E-Cd y beta-catenina como marcadores pronósticos, con correlación con alto grado y estadio avanzado de carcinoma vesical, asociándose la expresión anormal de ambas moléculas de adhesión en forma significativa con pobre sobrevida ( $p=0,07$ ) (121).

En contraste con la mayoría de las publicaciones, algunos investigadores reportan resultados que no demostraron asociación significativa entre patrón de expresión de E-Cd con el grado de diferenciación tumoral, estadio, sobrevida libre de

recurrencia, número de recurrencias, edad y sexo (20-168). Koksai y col. reportaron en 2006 que la expresión anormal de E-Cd y alfa-catenina ocurre en más del 85 % de los tumores vesicales, y que, si bien posee correlación estadísticamente significativa con tumores avanzados, no se correlaciona con grado tumoral, así como tampoco con el tamaño o número de lesiones (89).

Del análisis de la curva de supervivencia libre de progresión (figura nº 15) surge que el grado de diferenciación tumoral posee asociación estadísticamente significativa sobre el tiempo libre de progresión (tanto según la clasificación de OMS y de Consenso,  $p=0,01$ ), y que la expresión de patrón anormal o heterogéneo de E-Cd en el tumor primario se asocia significativamente con menor tiempo libre de progresión, como analizaremos más adelante.

Ross establece una interesante relación entre la relativamente mayor expresión de E-Cd en carcinomas uroteliales de bajo grado papilares comparado con las células del urotelio normal, sugiriendo que la sobreexpresión de E-Cd en tumores de bajo grado podrían representar una forma compensatoria de incremento de adherencia celular aumentada, manteniendo de esa forma la arquitectura papilar, provocando de esa manera resistencia a la invasión local (153).

4.2.2. Estadio tumoral y expresión de E-Cd: Como ya hemos mencionado, la pérdida o reducción de expresión de E-Cd es un evento frecuente en estadios avanzados de cáncer de vejiga, mientras que los tumores superficiales son más propensos a retener las características de expresión normal de E-Cd. Se demostró en ensayos in vitro con cultivos celulares que la expresión de E-Cd ha demostrado ser supresora de invasión celular. En efecto, una de las líneas celulares derivadas de la vejiga (línea celular EJ 24) no expresa caderina y es invasiva, mientras que otras líneas celulares (RT4 y RT1-12) expresan E-Cd y no son invasivas (55).

En nuestra serie de tumores superficiales, en 22 pacientes con tumores estadio pTa, la marcación con E-Cd reveló patrón homogéneo (normal) en 60%, en tanto que en los tumores estadio p T1 predomina la expresión heterogénea (anormal) de E-Cd expresada en 75 %. Así, destacamos la expresión de patrón anormal de E-Cd en estadio más avanzado (p T1) en relación a las neoplasias papilares no infiltrantes (estadio p Ta), con valores estadísticamente significativos ( $p=0,02$ ).

Las publicaciones que tratan exclusivamente acerca de la expresión de E-Cd de tumores superficiales, no músculo-infiltrantes, no son muchos. Mahnken expresó en una publicación en el año 2005: “En nuestro conocimiento, estudios que analizan el impacto pronóstico de inmunorreactividad de E-Cd, especialmente en carcinomas uroteliales mínimamente invasivos (estadio p T1) no han sido publicados en la literatura anglo-americana” (106). Este autor reporta inmunoreactividad anormal de E-Cd en 42 % del total de 69 casos estadio p T1, con una interesante correlación significativa en la subestadificación (pT1a/pT1b,  $p=0,029$ ).

Sun y col. observaron que la tinción con E-Cd en el urotelio por encima de la membrana basal (ya sea urotelio normal, Cis y carcinoma urotelial papilar superficial no invasor), exhibe un patrón membranoso que señala la región de contacto intercelular. Una vez que las células malignas infiltran la membrana basal, comienzan a perder la expresión de E-Cd en relación al menor grado de diferenciación del carcinoma urotelial, en células neoplásicas de localización profunda y en pequeños grupos celulares dentro del tumor. Considerando el rol de E-Cd como una molécula codificada por un gen supresor de invasión, la disminución de su expresión, aún en un grupo reducido de células, es suficiente para permitir el comienzo de proceso de invasión. Estos hechos reflejan que la función de las E-Cd va mas allá de la cohesión tisular, estando implicada en el mantenimiento de la diferenciación tisular (164). Sun y col. compararon la expresión de E-Cd en neoplasias de alto y bajo grado a distintas profundidades de invasión de tumor por debajo de la membrana basal; por medio de un sistema automatizado cuantitativo, determinaron que el urotelio normal, la displasia urotelial de alto grado/ Carcinoma in situ, y el carcinoma urotelial papilar superficial no invasor mantuvieron la expresión de E-Cd, en tanto que una vez que las células malignas atravesaron la membrana basal, la expresión de E-Cd disminuyó. El grado de disminución de expresión de E-Cd fue directamente proporcional al grado de diferenciación de tumor y profundidad de infiltración en el carcinoma urotelial invasor (163). Estos autores destacan que la expresión de E-Cd en carcinoma urotelial papilar superficial y en Cis es mayor aún que en el urotelio normal; este hecho se explicaría por algunos mecanismos tales como la regulación del gen E-Cd o el aumento de la estabilización proteica, y estaría reflejando el aumento de la demanda fisiológica para la adhesión intercelular y célula-matriz. El carcinoma de células transicionales superficial

requeriría incremento de E-Cd en la superficie de las células uroteliales, a fin de preservar la arquitectura exofítica papilar con adherencia del urotelio, para permitir la expansión superficial y el crecimiento tumoral, controlando también el desprendimiento celular. Sólo cuando la neoplasia se convierte en infiltrante, la expresión de E-Cd disminuye.

El complejo de E-Cd constituye el primer mediador de cohesión celular y de la integridad del epitelio, la alteración de estas moléculas puede conducir a la pérdida de diferenciación tisular y permitir las células desprenderse del sitio primario, invadir los tejidos contiguos y originar metástasis a ganglios linfáticos y a distintos órganos. En base a esta premisa, numerosos trabajos destacan que la expresividad de E-Cd se pierde en forma significativa en estadios avanzados de cáncer vesical (infiltración muscular y metástasis ganglionar) (20, 112, 153, 167, 163, 164), en contraste con los tumores superficiales.

Son numerosas las publicaciones que reflejan la asociación entre la pérdida de expresión de expresión de E-Cd conforme aumenta el estadio tumoral, con infiltración de la capa muscular y metástasis. Miahle y colegas, destacando esta manifiesta polarización de expresión de E-Cd entre tumores superficiales y músculo infiltrantes, demostraron expresión normal de E-Cd en tumores no músculo-infiltrantes en 62 % de los casos, mientras que aquellos músculo-infiltrantes expresaron en su gran mayoría, en contraste, un patrón de tinción anormal (75 %) (112). Byrne y col. analizaron la expresión de E-Cd en cáncer vesical, incluyendo áreas de Cis y ganglios metastáticos, a fin de determinar su valor para predecir progresión de enfermedad y sobrevida de pacientes con cáncer transicional de vejiga, observando que la expresión alterada de E-Cd estuvo asociada al estadio tumoral, metástasis linfática y riesgo aumentado de muerte por cáncer (20). Syrigos y col. concluyen en un estudio de expresión de complejo E-Cd y cateninas en tumores uroteliales, que la pérdida de tinción membranosa de estas moléculas de adhesión se correlacionan con asociación de alto grado tumoral, estadio avanzado y peor pronóstico (167). Ross y Byrne, en sus respectivos estudios de expresión de E-Cd en tumores vesicales, demostraron que la expresión anormal de E-Cd en tumores músculo infiltrantes era estadísticamente significativa en comparación con los tumores superficiales ( $p < 0,001$  y  $p = 0,001$ , respectivamente) (20-153).

4.2.3. Recurrencia tumoral y expresión de E-Cd: La alta recurrencia tumoral del

cáncer vesical reviste particular interés, dado que se atribuye a la expansión intraepitelial de las células neoplásicas o diseminación y consecuente implantación celular en la vejiga. De los 31 pacientes de nuestra serie que cursaron con recidiva de la enfermedad, en 64 % (20 casos) se demostró en la primera manifestación del tumor expresión de E-Cd con patrón anormal o heterogéneo, mientras que los pacientes sin recurrencia expresaron patrón homogéneo en 53 % de los casos (Tabla nº 12). En modelo de regresión logística se demuestra que la expresión anormal o heterogénea de E-Cd tiene valor pronóstico significativo sobre la aparición de recidivas ( $p= 0,04$ ), así como también la categoría de carcinoma de alto grado (Consenso).

A través del seguimiento de los pacientes se detectaron recidivas, únicas o múltiples (dos o más recidivas). La expresión heterogénea o anormal de E-Cd en carcinoma primario superficial de vejiga urinaria es la única variable que demostró asociación estadísticamente significativa en relación a episodio de dos o más recidivas ( $p= 0,01$ ), con respecto a la aparición de recidiva única (Tabla nº 13). La asociación entre la expresión heterogénea o anormal de E-Cd con mayor número de recidivas constituiría un aporte original respecto a la evolución de tumores superficiales de vejiga urinaria.

La expresión de E-Cd con patrón heterogéneo o anormal también constituye la única variable con asociación significativa en relación a recidivas en un lapso inferior a 12 meses o recidiva temprana (Tabla nº 14); los otros factores considerados en el modelo de regresión logística (edad, grado de diferenciación) no poseen significación pronóstica con respecto a la recidiva temprana.

Nuestros hallazgos concuerdan con lo expresado por Mahnken y col. en su trabajo de tumores mínimamente invasivos (T1), quienes reportaron que la expresión anormal de E-Cd se correlaciona significativamente con la recurrencia tumoral temprana ( $p= 0,005$ ) y, en análisis multivariado, este parámetro se erige junto con alto grado tumoral ( $0,002$ ), como un factor predictor independiente de sobrevida libre de recurrencia ( $p= 0,016$ ), concluyendo que la tinción con E-Cd puede proveer información pronóstica adicional en pacientes carcinoma urotelial en estadio p T1 (106). Serdar y colegas, en un estudio de 61 pacientes con tumor vesical, demostraron que la expresión anormal de E-Caderina fue significativamente asociada con recurrencia de la enfermedad ( $p < 0,001$ ), progresión de la enfermedad ( $p < 0,001$ ) y a sobrevida

específica de enfermedad vesical (156). Moyano Calvo y col., reportaron un estudio de 88 tumores vesicales estadio T1, en el que hallaron también asociación entre la expresión anormal de E-Cd y recurrencia temprana, aunque destacan como marcadores pronósticos más útiles a Ki 67 y la falta de expresión de beta-Catenina, esta última con valor independiente en la recurrencia tumoral (114). Zhu y col. proponen que los principales factores que promueven la recurrencia tumoral a corto término en carcinoma superficial de vejiga urinaria son la expresión escasa de E-Cd (mínima adhesión), la fuerte resistencia a las drogas y la máxima proliferación celular (alto índice de marcación con Ki-67), constituyendo razones para la fácil recurrencia y alta malignidad de los tumores T (1) G (3) (181).

4.2.4. Progresión tumoral y expresión de E-Cd: En nuestra serie, la expresión de E-Cd con patrón anormal o heterogéneo constituye también la única variable asociada significativamente con la progresión de la enfermedad ( $p=0,02$ ) (Tabla nº 13); las otras variables tales como edad, sexo, tabaquismo, grado tumoral según OMS y estadio tumoral no tuvieron asociación categórica con progresión.

Nuestros resultados coinciden con la publicación de Mhaweche-Fauceglia y col., quienes en su estudio de 246 pacientes con carcinoma vesical estadio pTa/pT1 con seguimiento a largo término, demostraron valor pronóstico de la expresión de E-Cd como un factor independiente predictor de progresión tumoral ( $p= 0,003$ ) (111). Ross y col. también demostraron que los tumores vesicales con expresión anormal de E-Cd poseen propensión a infiltrar la pared vesical ( $p=0,001$ ) (153).

En nuestro trabajo, el análisis de la curva de tiempo libre de progresión (fig nº 15) demostró que hay efecto estadísticamente significativo de la expresión heterogénea de caderinas ( $p= 0,02$ ). Como ya hemos mencionado, la supervivencia libre de progresión tuvo correlación con el patrón de expresión de E-Cd, independientemente del grado tumoral: Los tumores con expresión homogénea o normal de E-Cd presentaron mayor supervivencia libre de progresión, en tanto que las neoplasias con expresión heterogénea demostraron menor supervivencia libre de progresión o supervivencia libre de progresión que puede considerarse intermedia. Cabe destacar que tanto los tumores con expresión homogénea o heterogénea de E-Cd están conformados por carcinomas de alto y bajo grado según clasificación de Consenso, vale decir, aquellas neoplasias que tuvieron mayor tiempo libre de progresión, independientemente de grado tumoral, poseen perfil

homogéneo de E-Cd. Por otro lado, la menor sobrevida libre de progresión se observa en carcinomas tanto de bajo y alto grado que tengan expresión heterogénea o anormal.

De los 6 pacientes con progresión temprana (antes de los 12 meses), 5 casos (83 %) expresan patrón heterogéneo de E-Cd, que, si bien muestra una marcada tendencia, debido al exiguo número de casos, no son suficientes para demostrar asociación estadística.

En 1993, Bringuier y col. publicaron un estudio que relacionaba la disminución de expresión de E-Cd y pobre sobrevida en pacientes con cáncer vesical; con muestras de tejido fresco y anticuerpos monoclonales anti E-Cd, caracterizaron el patrón de tinción de 24 tumores vesicales superficiales y 25 tumores músculo-infiltrantes; en este estudio, la pérdida de expresión de E-Cd, además de correlacionarse con incremento de grado histológico y estadio patológico, se asoció con importante reducción de sobrevida, estadísticamente significativa.

Imao y col. efectuaron estudios experimentales en líneas celulares que asocian la expresión de E-Cd y la progresión tumoral; señalaron el papel dominante de E-Cd en la progresión de tumores de vejiga urinaria: se inocularon líneas celulares de tumores vesicales superficiales e invasivos en embriones de pollo, a fin de evaluar progresión (determinada por potencial metastático al hígado); estos autores determinaron la expresión de E-Cd por Western-blot e inmunohistoquímica, y demostraron expresión normal de esta molécula de adhesión solamente en las líneas celulares de tumores superficiales y no en los invasivos, lo que implicaría que la pérdida de expresión de E-Cd es un factor crítico que facilita la progresión de tumor vesical (73).

Se han publicado numerosos trabajos que destacan la expresión de distintas moléculas de adhesión celular (CAM) en relación con progresión tumoral en tumores de vejiga (31). Clairotte y col., evaluando la expresión conjunta de moléculas de adhesión E-Cd, alfa, beta y gamma-Cateninas en tumores vesicales, demostraron sólo a la gamma-Catenina como predictor independiente de sobrevida libre de progresión en pacientes con carcinoma urotelial vesical estadio T1 (30). Lascombe y col. publicaron que la expresión aumentada de N-Caderina (N-Cd) constituye un marcador de progresión independiente en los tumores uroteliales superficiales (pT1) (95). Otros autores manifiestan que la expresión disminuída de la molécula de adhesión CD 44, detectable por métodos de inmunohistoquímica, es útil en la predicción de la progresión tumoral

temprana de carcinomas vesicales superficiales de alto riesgo, complementando a factores pronósticos establecidos (161).

Algunas investigaciones destacan el valor de la expresión de E-Cd en recurrencia y progresión, mayor aún que marcadores moleculares clásicamente señalados como factor pronóstico. Serdar y colegas, correlacionando la expresión de E-Cd y de P 53, demostraron que la expresión anormal de E-Caderina fue significativamente asociada a parámetros evolutivos (recurrencia, progresión y sobrevida específica de enfermedad vesical), mientras que la sobre-expresión de p 53 no fue significativa para recurrencia de enfermedad ( $p > 0,05$ ) (156).

4.2.5. Consideraciones acerca de otros aspectos de tumores vesicales en relación a expresión de E-Cd: El carcinoma urotelial de alto grado se asocia frecuentemente a carcinoma in situ (Cis), el cual puede reemplazar amplias áreas de mucosa del tracto urinario. El componente invasivo del tumor, como ya hemos mencionado, frecuentemente revela pérdida de expresión de moléculas de adhesión, en tanto que la expresión de E-Cd en Cis urotelial constituye un punto de interés sobre el que se han publicado numerosos trabajos, en cuanto a crecimiento tumoral, y pronóstico de estas lesiones. Es poco lo que se sabe sobre la función de E-Cd en el desarrollo y expansión de la neoplasia intraepitelial. En tal sentido, Bindels y col. investigaron la influencia de E-Cd en estudios in vitro con líneas celulares de carcinoma urotelial, destacando un rol dual y paradójico de E-Cd en la tumorigénesis vesical; por un lado, la presencia de E-Cd promovería la expansión de la neoplasia intraepitelial, y por otra parte, su pérdida se correlaciona con comportamiento invasivo (11).

En nuestra experiencia no se encontró asociación significativa entre la presencia de Cis asociado al tumor con patrón de expresión de E-Cd, así como tampoco con variables clínico-patológicas tales como sexo, tabaquismo, grado de diferenciación y estadio. Consideramos que en nuestro trabajo la observación y valoración de Cis está condicionada ya que, inicialmente, la intención de incluir en la muestra tisular de RTU vesical áreas de carcinoma in situ no fue realizada en forma deliberada al momento de la intervención quirúrgica.

Como ya hemos mencionado, Sun y col. resaltan el incremento de expresión de E-Cd en Cis, mayor aún que en el urotelio normal, explicándolo como un mecanismo compensatorio para contrarrestar la tendencia al desprendimiento y diseminación de las

células neoplásicas, permitiendo la expansión superficial (164). En discrepancia con estas observaciones, Byrne y col. describen patrón de tinción anormal de E-Cd en Cis, comparable al rango de carcinomas uroteliales músculo infiltrantes y mucho mayor al observado en tumores no infiltrantes, sugiriendo la explicación para la asociación de Cis y carcinoma invasor; sin embargo, destaca que la mitad de casos de Cis sin asociación de carcinoma invasor poseen expresión conservada de E-Cd (20).

Shariat y col., en una serie de 53 casos de Cis en ausencia de invasión muscular, encontró que la expresión anormal de E-Cd en Cis, con o sin neoplasia papilar vesical, predice recurrencia y progresión de la enfermedad y muerte por causa específica de cancer vesical; de tal manera, la expresión de E-Cd alterada de Cis representaría una neoplasia biológicamente más agresiva, que requiere una terapia agresiva más temprana (156). La asociación del dominio citoplasmático de E-Cd con las cateninas (alfa, beta y gamma) es esencial para el mantenimiento de las propiedades de adherencia celular, si se interrumpe esta particular asociación entre E-Cd - cateninas-citoesqueleto, resulta en pérdida de las funciones de adherencia celular. Se han publicado diversos trabajos en los que se asocia la expresión de E-Cd y cateninas. En los tumores vesicales de bajo grado se ha demostrado que la presencia del complejo funcional E-Cd/ cateninas, con expresión preservada de las mismas, constituiría un importante determinante en la recurrencia de lesiones vesicales. En los tumores vesicales de alto grado, la pérdida de la expresión de E-Cd o de las cateninas asociadas se correlaciona con pobre sobrevida (150). La utilidad clínica de este parámetro debería ser evaluada en un estudio prospectivo a gran escala.

Uno de los mayores desafíos en la investigación básica y clínica del carcinoma superficial de vejiga urinaria consiste en desarrollar una técnica diagnóstica que determine el potencial evolutivo y respuesta a la terapia de un tumor en particular. Se plantea el interrogante de cuáles son los métodos mejores y mas eficientes para establecer factores predictivos de riesgo, a escala individual. Las respuestas se buscaron a través de marcadores al nivel molecular, con el objetivo de explorar la posibilidad de adecuar los nuevos tratamientos y los ya existentes a los riesgos de progresión y a las alteraciones moleculares específicas del tumor (143). La discriminación de tumores con mayor capacidad agresiva se basa en estudios de alteraciones genéticas, cambios citoestructurales y de superficie celular.

Precedentemente se ha hecho referencia de los resultados obtenidos con p 53, donde la mutación del gen, pérdida de heterocigotidad y sobreexpresión de proteína p 53 en los tumores de vejiga se han asociado a aumento de grado y estadio del cáncer vesical (44-154), así como también aumento de riesgo de recurrencia y muerte por enfermedad (50). Lopez Beltran y colaboradores consideraron en su estudio de sobrevida de cáncer vesical una variedad de factores y concluyeron que, además de la determinación del grado y estadio patológico, la pérdida de la expresión del antígeno del grupo sanguíneo, estado de ploidía de DNA, y expresión del oncogen Ras y oncoproteína p 21, fueron variables directamente correlacionadas con pobre curso clínico (100). Se han efectuado varios estudios correlacionando expresión de E-Cd y distintos marcadores que constituyen factores pronósticos en el carcinoma urotelial.

4.2.6. Consideraciones clínicas y terapéuticas: Las neoplasias uroteliales de alto grado en estadio T1 progresan en 20-30 % de los casos. El alto riesgo de convertir estas lesiones a tumores músculo-infiltrantes, con la consiguiente posibilidad de metástasis a distancia, plantea el dilema de la conducta a seguir. En efecto, la misma consiste en intentar un control de la progresión con terapéutica adyuvante o bien una terapéutica agresiva, la cistectomía radical, en una etapa del desarrollo tumoral con fuertes posibilidades de curar la enfermedad.

La cistectomía radical de tumores músculo-infiltrantes arroja un índice de supervivencia de 50-60 % a los 5 años. Por otro lado, tenemos en cuenta la morbilidad de la cirugía radical y las limitaciones que puede imponer al paciente durante el resto de su vida.

La terapia adyuvante en los pacientes de alto riesgo, basados en grado y estadio fundamentalmente, es una práctica aceptable en tanto pueda asegurarse el control adecuado del paciente pero deberá tenerse en cuenta el riesgo de una potencial recurrencia y/o progresión.

La posibilidad de agregar otros factores pronósticos, independientemente de los clásicamente utilizados, constituye una posibilidad para agregar elementos de juicio para decidir conductas. En este sentido, nuestra experiencia con patrón de expresión de E- Cd asociada a variables clínicas y patológicas del carcinoma superficial de vejiga urinaria nos permite sugerir algunos aportes referidos a la expresión de esta molécula de adhesión, que son potencialmente útiles para la consideración de la evolución de

estos tumores.

La consideración de los tumores uroteliales de vejiga plantea una serie de certezas e interrogantes. Su división en tumores músculo-invasivos y superficiales (no músculo-invasivos) marca una primera noción terapéutica: los primeros serán subsidiarios de conductas agresivas, cistectomía radical por ejemplo, con o sin empleo de adyuvancia o neoadyuvancia (quimioterapia, radioterapia). No acontece lo mismo con los tumores superficiales, conformados por lesiones de disímiles características evolutivas, con marcada tendencia a recurrencias y, algunas de ellas, a la progresión, constituyendo un problema trascendente estimar cuáles son los que requerirán medidas terapéuticas complementarias.

Luego de su diagnóstico, la conducta estandarizada es la resección transuretral de las mismas y el subsiguiente estudio histopatológico, del que se obtendrán elementos de juicio de importancia crítica para decidir conductas ulteriores. El número y tamaño de las lesiones, así como los antecedentes de recurrencias previas y la estructura papilar o no papilar son factores a tener en cuenta, pero hasta el presente el grado y estadio continúan siendo las variables pronósticas más importantes (122).

No obstante, experiencias efectuadas con distintos observadores, marcaron sensibles diferencias de evolución en tumores con mismo grado y estadio. Las potencialmente fuertes implicancias de esta situación para los pacientes sugeriría la necesidad de elementos pronósticos más confiables y objetivos (1-127-13).

Con referencia a las posibilidades de recurrencia de tumores de estadio primario Ta-T1, en dos extensos estudios del British Medical Research Council, el resultado del examen endoscópico efectuado a los tres meses de realizada la resección transuretral fue, conjuntamente con el número de lesiones, el factor pronóstico más importante (134). Del análisis de numerosos estudios multivariados utilizando tamaño tumoral, grado y promedio anual de recurrencias (94); número, tamaño, grado y estadio (6) y grado, recurrencias, respuesta a adyuvancia local con BCG y presencia de CIS (113) surgieron grupos de riesgo, basados en factores pronósticos obtenidos de la práctica urológica diaria. Clasificaciones elaboradas a partir de estos factores han sido adoptadas por la American Urological Association y la European Association of Urology como guía para elaborar pautas terapéuticas y de seguimiento de los pacientes. De este modo, los mismos son clasificados como de bajo riesgo (tumor único, Ta, G1, menor

de 3 cm. de diámetro); de riesgo intermedio (multifocales, Ta-TI, GI-II, mayor de 3 cm.) y de alto riesgo (TI, GIII, multifocales y/o con carcinoma in situ asociado) (128). Con referencia a este último grupo, la conducta terapéutica a seguir reconoce opiniones controvertidas. Ya fueron expresados los altos porcentajes de recurrencia y progresión que exhiben los tumores de referencia, razón por la que el uso de terapia intravesical adyuvante es una práctica ampliamente difundida. Los objetivos de la misma son el control de enfermedad que pudiera no haber sido totalmente erradicada por la cirugía transuretral, particularmente pequeñas lesiones diseminadas, así como la prevención de recurrencias en pacientes de riesgo y de progresión en este mismo grupo de enfermos (66). Con la finalidad expuesta fueron diversos los quimioterápicos antitumorales (trietileno-tiofosforamida, doxorubicina, epirubicina, mitomicina C, Gemcitabina) (5,160,166) e inmunomoduladores utilizados (Bacilo de Calmette-Guerin o BCG, alfa-interferon, bropirimina) (8,166,12).

La estratificación precedente, ampliamente difundida, resulta de utilidad para considerar las posibilidades evolutivas de grupos de pacientes, pero el objetivo principal, la predicción del resultado final en un paciente determinado, permanece todavía con interrogantes (177).

En esta circunstancia, la toma de decisiones constituye un punto crítico, toda vez que las mismas involucran desde la aplicación de conductas conservadoras a la adopción de posturas más agresivas que presuponen cistectomía radical y consecuente derivación urinaria. Esta conducta, totalmente pertinente cuando se consideran pacientes con tumores que invaden la muscular propia de la vejiga, no está exenta de riesgos y puede presuponer cambios importantes en la calidad y estilo de vida de quienes son sometidos a la misma, razón por la que esta propuesta no es fácilmente aceptada por los pacientes con tumores en estadio superficial. Por contrapartida, cuando la enfermedad inicialmente no músculo-invasiva recurre y progresa de estadio, existen fuertes posibilidades que aquella ya esté fuera del alcance de la cirugía radical al momento del diagnóstico de invasión (102,109).

## CONCLUSIONES

En base a los objetivos propuestos, y a partir de los resultados del presente trabajo surgen las siguientes conclusiones:

- 1) La determinación de expresión de E-Cd por método de inmunomarcación en tejido de archivo de especímenes de RTUV fijados en formol e incluidos en parafina constituyó una metodología confiable que permitió evaluar dos patrones distintos de expresión: patrón homogéneo o normal, que determina expresión conservada de E-Cd, y patrón heterogéneo o anormal, que manifiesta pérdida del complejo de membrana E-Cd.
- 2) Confirmamos la expresión normal u homogénea de E-Cd por método de inmunohistoquímica en urotelio normal, y expresión anormal o heterogénea en tumores infiltrantes de capa muscular (casos controles).
- 3) La totalidad de los tumores superficiales de vejiga urinaria estudiados (46) expresan E-Cd, con patrones de expresión homogéneo y heterogéneo, ninguno con expresión negativa de E-Cd.
- 4) La expresión anormal o heterogénea de E-Cd estuvo presente en 58,7 % (27/46 casos) de los tumores superficiales de vejiga urinaria.
- 5) La expresión de E-Cd con patrón heterogéneo o anormal se asoció en forma significativa con grado III de diferenciación tumoral según clasificación de OMS, con progresiva disminución de expresión de E-Cd en relación al aumento del grado tumoral: 90 % (9/10 casos) de los carcinomas grado I tuvieron patrón de expresión homogéneo de E-Cd, en tanto que la totalidad de los carcinomas grado III (9 casos) tuvieron

expresión de patrón heterogéneo ( $p= 0,003$ ).

6) En los tumores GII (OMS), si bien hubo predominio de expresión heterogénea (17/27 casos, 63 %) no se demostró asociación significativa con expresión anormal de E-Cd.

7) En la clasificación de Consenso OMS-ISUP, la categoría carcinoma de alto grado se asoció en forma significativa con expresión de E-Cd con patrón anormal o heterogéneo ( $p= 0,02$ ). 17 de 22 pacientes con carcinoma de alto grado (77,2 %) tuvieron expresión anormal de E-Cd

8) Hubo significativa asociación entre los tumores no músculo-infiltrantes, estadio T1, y patrón de expresión anormal o heterogénea de E-Cd ( $p= 0,02$ ). Se observó expresión anormal o heterogénea de E-Cd en 75 % (18/24 casos) de los tumores infiltrantes de lámina propia (T1).

9) La expresión heterogénea o anormal de E-Cd en los casos de carcinoma de vejiga urinaria no músculo-infiltrantes, se asocia en forma significativa con el desarrollo de recidiva tumoral ( $p= 0,0408$ ). De 31 pacientes con recidiva tumoral, 20 (64 %) tuvieron expresión heterogénea o anormal de E-Cd en el tumor primario.

10) La expresión anormal o heterogénea de E-Cd en los tumores vesicales no músculo-infiltrantes posee asociación significativa con recurrencia tumoral múltiple ( $p= 0,01$ , modelo de regresión Poisson). De 17 pacientes con recurrencias múltiples, se detectó expresión heterogénea o anormal de E-Cd en el tumor primario en 12 casos (70,6 %).

11) La expresión heterogénea o anormal de E-Cd en el carcinoma urotelial no músculo infiltrante tuvo asociación significativa con el desarrollo de recidiva temprana, en término menor a 12 meses ( $p= 0,008$ ). 14 pacientes de 18 con recidiva temprana (78 %), tuvieron expresión anormal de E-Cd.

12) La expresión anormal o heterogénea de E-Cd en el carcinoma urotelial vesical no músculo-infiltrante se asocia significativamente con progresión tumoral ( $p= 0,02$ ); se

demonstró inmunomarcación heterogénea de E-Cd en 7/8 casos (87,5 %) que en las sucesivas recurrencias infiltraron pared muscular

13) La expresión de E-Cd con patrón anormal o heterogéneo en la manifestación primaria del carcinoma de vejiga urinaria no músculo-infiltrante podría erigirse como un factor predictor independiente de menor tiempo libre de progresión ( $p=0,02$  en modelo conjunto de regresión logística múltiple).

14) La pérdida de expresión de E-Cd posee asociación significativa con parámetros histopatológicos clásicos (alto grado tumoral y estadio p T1, con infiltración de lámina propia), y de evolución tumoral (recurrencia y progresión).

15) La pérdida de expresión de E-Cd en el carcinoma vesical no músculo-infiltrante, determinada por inmunohistoquímica, puede proveer información pronóstica adicional, que complementaría la información pronóstica de parámetros clínicos e histopatológicos clásicos.

16) La determinación de patrón de expresión de E-Cd es de interés en la caracterización de tumores superficiales que progresarán, sobre todo carcinomas de alto grado T1, ya que nos conduciría a la identificación de pacientes que se beneficiarían con la cirugía para evitar la invasión de músculo vesical y, consecuentemente, la metástasis.

Como hechos emergentes del presente trabajo, surgen datos epidemiológicos, histopatológicos y evolutivos de los tumores superficiales de vejiga urinaria que consideramos son de interés del mismo; por lo tanto, mencionamos que:

- En nuestro estudio determinamos que el carcinoma superficial de vejiga urinaria afecta principalmente al sexo masculino (67 %), con promedio de edad de 67,3 años (rango de edad entre 35 y 94 años). El factor de riesgo tabaquismo estuvo presente en el 70% de los pacientes de nuestra serie, predominantemente en hombres. Entre los

pacientes no fumadores, las mujeres representaron el 60 %.

- El grado patológico predominante, según criterios de OMS, fue G2 (27 casos, 58,7 %). Según la clasificación de grado de Consenso OMS/ISUP, se demostró similar distribución entre carcinoma de bajo grado y de alto grado (22 casos en cada categoría, representando cada una 47,8%), con solo 4 % (2 casos) de NPBPBPM . El estadio tumoral, según UICC, tuvo una distribución relativamente uniforme entre Ta y T1 (47,8 % y 52,2 %, respectivamente). Se demostró CIS carcinoma urotelial no músculo-infiltrante asociado en 8 pacientes (17,4 % de los casos).
- En el seguimiento del carcinoma no músculo-infiltrante, hubo marcada tendencia a la recurrencia tumoral (31/46 pacientes, 67 %). 18/31 pacientes (58 %) con recidiva tumoral presentaron recidiva temprana, en lapso menor a 12 meses de la aparición del primer tumor. 17/31 pacientes (55 %) con recidiva tumoral manifestaron 2 o más episodios de recidiva (recurrencia múltiple). Los tumores categorizados como carcinoma de alto grado, según clasificación de Consenso, mostraron asociación significativa con respecto al desarrollo de recidiva tumoral ( $p= 0,0396$ ), comparados con carcinomas de bajo grado. La progresión tumoral se manifestó en 26 % de los pacientes, de los cuales el 75 % lo realizaron en forma temprana.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Abel, PD, Henderson, D, Bennet, MK, Hall, RR, Williams, G., 1988. Differing interpretations by pathologist of the pT category and grade of transitional cell cancer of the bladder. *Br J Urol*, 62: 339.
2. Algaba F., Moreno A., Trias I. 1996, Uropatología tumoral, 2º ed., Barcelona, Edit Pulso, pp 103-212.
3. Algaba F., 1998. Futuros marcadores celulares pronósticos en el cáncer urológico. Su aplicación práctica e influencia sobre los marcadores clásicos. En: Villavicencio H., Solsona E.: Estrategia actual para el futuro de la uro-oncología. Edit. Acción Médica, Barcelona, pp 21-60.
4. American Joint Cancer Committee (AJCC). Manual for staging of cancer, 6º ed., Philadelphia: Lipincott Raven, 2002:335-40.
5. Ali-el-Dein B, el-Baz M, Ali AN et al. 1997. Intravesical epirubicina vs doxorubicina for superficial bladder tumors (stages pTa-pT1): a randomized prospective study. *J Urol*, 158:68-73.
6. Allard P, Bernard P, Fradet Y et al. 1998. The early clinical course of primary Ta and T1 bladder cancer: a proposed prognostic index. *Br.J Urol* 81: 692-698.
7. Bengió RH, Metrebian S. 2001. Tumores de vejiga. En: Tumores urogenitales: Criterios generales y recomendaciones para su diagnóstico y tratamiento. 1º Ed. Córdoba, Editorial Lumen, pp 41-61.
8. Bengió RH, Olmedo L, Doning, A, Solarolo E. 1995. Bacilo de Calmette Guerin (BCG) en el tratamiento y prevención de recidivas de tumores superficiales (Ta-T1) y carcinoma in situ (Tis) de vejiga. *Rev Arg Urol* 60:13-17.
9. Bedwani R, Renghanatan E, El Hwhsky F. 1998. Schistosomiasis and the risk of bladder cancer in Alexandria, Egypt. *Brit J Cancer* 77:1186-1189.
10. Berner A, Jacobsen AB, Fossa SD, Nesland JM. 1993. Expression of c-erbB-2 protein, neuron-specific enolase and DNA flow cytometry in locally advanced transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Histopathol* 22:327-333.
11. Bindels E et al. 2000 E-Cad promotes intraepithelial expansion of CIS neoplastic bladder cells in vitro. *Cancer Res* 60(1):177-83.
12. Bohle A, Jocham D, Bock PR. 2003. Intravesical bacillus of Calmette-Guerin versus mitomycin C for superficial bladder cancer: a formal meta-analysis of comparative studies on recurrence and toxicity. *J Urol*, 169: 90-95.

13. Bol MG, Baak JP, Buhr-Wildhagen S et al. 2003. Reproducibility and prognostic variability of grade and lamina propria invasion en stage Ta-T1 carcinoma of the bladder. *J Urol*, 169: 1291-1294.
14. Bostwick DG, Eble JN. 1997. Neoplasms of the urinary bladder. En: *Urological Surgical Pathology*. 1 ° ed. St. Louis, Mosby-Year Book. Pp 215-303
15. Bostwick DG, Rammani D, Cheng L, 1999: Diagnosis and grading of bladder cancer and associated lesions. *Urologic Clinics of North America*, 26; 3: 493.
16. Bringuier P, Umbas R, Schaafsma E: 1993. Decreased E-Cadherin immunoreactivity correlates with poor survival in patients with bladder carcinoma. *Cancer Res* 53:3421-3425.
17. Bringuier PP, Tamini Y, Schuurig E, Schalken J. 1996. Expression of cyclin D1 and EMS1 in bladder tumours; relationship with chromosome 11q13 amplification. *Oncogene* 12:1747-1753.
18. Butler MA, Iwasaki M, Guengerich FP et al. 1989. Human citocromo P-450PA , the phenacetin O-deethylasa, es primarily reponsible por the hepatic 3-demethylation of cafeine and N-oxidation of carcinogenic arilaminas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86:7696-7700.
19. Butler MA, Lang NP, Young JF et al. 1992. Determination of CYP1A2 and NAT2 phenotypes in human population by análisis of caffeine urinary metabolites. *Pharmacogenetics*, 10: 116-127.
20. Byrne RR, Shariat SF, Brown R et al. 2001 E-cadherin immunoestaining of bladder transitional cell carcinoma, carcinoma in situ and lymph node metastases whith long –term followup. *J Urol* 165: 1473-147.
21. Cairns P, Proctor AJ, Knowles MA. 1991. Loss of heterozygosity at the RB locus is frequent and correlates with muscle invasion in bladder carcinoma. *Oncogene* 6:2305-2309.
22. Campbell, Messing E. Tumores uroteliales del tracto urinario. En: *Urología*. 2004. Walsh et al. 8º Edición. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires
23. Cantor AF, Hartge P, Hoover RN et al. 1984. Urinary tract infection, an risk of bladder cancer. *Am J Epidemiol* 119: 510-515.
24. Cantor KP, Lynch CF and Jonson D. 1992. Bladder cancer parity, and age at first birth. *Cancer Causes Control* 3: 57-629.
25. Carroll KK. Dietary factors in hormono-dependent cáncer. 1977. In Winick M Editor "Nutrition and cancer". New York. John Weley & Sons

26. Case RA, Hosker ME, et al. 1954. Tumours in the urinary bladder in workmen engaged in the manufacture and use of certain dyestuff intermediates in the British chemical industry. *Br J Ind Med* 11: 75-104.
27. Castelao JE, Yuan JM, Gago Domínguez M. 2004. Carotenoides/vitamin C and smoking-related bladder cancer. *Int J Cáncer* 110:417-423.
28. Castelao JE, Yuan JM, Gago Domínguez M. 2000. Non steroidal antiinflammatory drugs and bladder cancer prevention. *Br J Cancer* 82: 1364-1369.
29. Cattan N, Saison-Behmoaras T, Mari B, Mazeau C, Amiel JI, Rossi B, Gioanni J. 2000. Screening of human bladder carcinomas for the presence of Ha-ras codon 12 mutation. *Oncol Rep* 7:497-500.
30. Clairotte A, Lascombe I, Fauconnet S et al. 2006. Expression of E-Cadherin and alpha-, beta-, gamma catenins in patients with bladder cancer: identification of gamma catenin as a new prognostic marker of neoplastic progression in T1 superficial urothelial tumors *Am J Clin Pathol* 125:119-26 .
31. Cohen MB, Griebing TL, Ahaghotu CA, Rokhlin OW, Ross JS. 1997. Cellular adhesion molecules in urologic malignancies *Am J Clin Pathol* 107: 56-63.
32. Cordon-Cardo. 1998. Molecular alterations in bladder cancer. *Cancer Surv* 32:115-31.
33. Cordon-Cardo C, Reuter VE. 1997. Alterations of tumor suppressor genes in bladder cancer. *Semin Diagn Pathol* 14:123-132.
34. Cordon-Cardo C, Wartinger D, Petrylak D, Dalbagni G, Fair WR, Fuks Z, Reuter VE. 1992. Altered expression of the retinoblastoma gene product: prognostic indicator in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 84: 1251-1256.
35. Cremonuzzi DC, Silva RA, Diaz MP, Eynard AR. 2001. Dietary polyunsaturated fatty acids (PUFA) differentially modulate melamine-induced preneoplastic urothelial proliferation and apoptosis in mice. *Prostagl Leuk Essential Fatty Acids* 64:151-159.
36. Cremonuzzi DC, Diaz MP, Valentich MA, Eynard AR. 2004. Neoplastic and preneoplastic lesions induced by melamine un rat urothelium are modulated by dietary polyunsaturated fatty acids. *Food Chem Toxicol*, 42:1999-2007.
37. Cutler SJ, Heney NM, Friedell GH. 1982. Longitudinal study of patients with bladder cancer: factors associated with disease recurrence and progression. In: Bonney WW, Prout GR, eds. *Bladder cancer*. Baltimore. Williams & Wilkins AUA monograph I: 35-42.
38. Czerniak B, Cohen GL, Etkind P, Deitch D, Simmons H, Herz F, Koss LG. 1992. Concurrent mutations of coding and regulatory sequences of the Ha-ras gene in urinary bladder carcinomas. *Hum Pathol* 23: 1199-1204.

39. Chen SS, Chen KK, Lin AT, et al. 1996. The significance of tumour grade in predicting disease progression in stage Ta transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Br J Urol* 78:209-12.
40. Cheng L, Neumann RM, Bostwick DG. 1999. Papillary urothelial neoplasms of low malignant potential. Clinical and biological implications. *Cancer* 86: 2102-8.
41. Cheng L, Weaver AL, Leibovich BC, et al. 2000. Predicting the survival of bladder carcinoma patients treated with radical cystectomy. *Cancer* 88: 2326-32.
42. Chiou HY, Chiou ST, Hsu YH et al. 2001. Incidence of transitional cell carcinoma and arsenic in drinking water: a follow up study of 8,102 residents in a arseniasis-endemic area in northeastern Taiwan. *Am J Epidemiol* 153:411-418.
43. Dalbagni G, Presti JC, Reuter V. 1993. Genetic alteration in bladder cancer. *Lancet* 324:469.
44. Dalbagni G, Presti JC, Reuter VE. 1993. Molecular genetic alterations of chromosome 17 and p53 nuclear overexpression in human bladder cancer. *Diagn Mol Pathol* 2:41-43.
45. Dickinson A., Fox S., Persad R., Hollyer J, Sibley G, Harris A. 1994. Quantification of angiogenesis as an independent predictor of prognosis in invasive bladder cancer. *Br J Urol* 74:762-6
46. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA, 2004. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. IARC Press, Lyon.
47. Eble JN, Young RH. 1991. Stromal osseous metaplasia in carcinoma of the bladder. *J Urol* 145:823-5.
48. Edwards BF, Rossitto PV, Baker WC. 1987. Transitional cell cytokeratins as a second parameter in flow cytometry of bladder cancer. *World J Urol* 5:123-6.
49. Epstein J, Amin M, Reuter V, Fathollah K., Mostofi and the Bladder Consensus Conference Committee. 1998. The World Health Organization/International Society of Urological Pathology Consensus Classification of Urothelial (transitional cell) Neoplasms of the Urinary Bladder. *Am J Surg Pathol* 22: 1435-1448.
50. Esrig D, Elmajian D, Groshen S. 1994. Accumulation of nuclear p53 and tumor progression in bladder cancer. *N Engl J Med* 331: 1259-1264.
51. Eynard AR. 1998. Is the risk of urinary tract tumorigenesis enhanced by a marginal chronic essential fatty acids deficiency (EFAD). *Nutrition* 14: 211-216.
52. Finlay CA, Hinds PW, Tan T. 1988. Activating mutations for transformation by

p53 produce a gene product that forms an hsc 70-p53 complex with an altered half life. *Mol Cell Biol* 8:531-539.

53. Foresman WH, Messing EM. 1997. Bladder cancer: natural history, tumor markers and early detection strategies. *Semin. Surg. Oncol.* 13:299-306. Wiley-Liss Inc.
54. Fradet Y, Cordon-Cardo C, Whitemore WF Jr, Melamed MR, Old LJ. 1986. Cell surface antigens of human bladder tumors: definition of tumor subsets by monoclonal antibodies and correlation with growth characteristics. *Cancer Res* 46:5183-8.
55. Frixen UH, Behrens J, Sachs M, Eberle G, Voss B, Warda A, Lochner D, Birchmeier W. 1991. E-Cadherin mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cell. *J Cell Biol* 113: 175-185.
56. Gago Domínguez M, Bell DA, Watson MA et al. 2003. Permanent hair-dyes and bladder cancer: risk modification by cytochrome P4501A2 and N-acetyltransferases 1 and 2. *Carcinogenesis* 24: 483-489.
57. Gago Domínguez M, Castela JE, Yuan JM et al. 2001. Use of permanent hair-dyes and bladder cancer risk. *Int J Cancer* 91:575-579.
58. Gago Dominguez M, Chan KK, Ross RK et al. 2001 Permanent hair-dyes and bladder cancer risk. *Int J Cancer* 94: 905-906.
59. Gardiner RA, Samarasinghe ML, Walsh MD, Seymour GJ, Lavin MF. 1992. An immunohistological demonstration of c-erbB-2 oncoprotein expression in primary urothelial bladder cancer. *Urol Res* 20: 117-120.
60. Girolidi LA, Bringuier PP, Shimazui T, Janssen K, Schalken JA. 1999. Changes in Cadherin-Catenin complexes in the progression of human bladder carcinoma. *Int J Cancer* 82:70-6.
61. Girolidi LA, Shimazui T, Schalken JA. 2000. Classical cadherins in urological cancers. *Morphologie* 84:31-8.
62. Grignon D: Neoplasms of the Urinary bladder. En: Bostwick D, Eble J. 1997. *Urologic Surgical Pathology*. St Louis, Edit. Mosby, pp 215-306.
63. Gorgoulis VG, Barbatis C, Poulas I, Karameris AM. 1995. Molecular and immunohistochemical evaluation of epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 gene product in transitional cell carcinomas of the urinary bladder: a study in Greek patients. *Mod Pathol* 8:758-764.
64. Habuchi T, Kinoshita H, Yamada H, Kakehi Y, Ogawa O, Wu WJ, Takahachi R, Sugiyama T, Yoshida O. 1994. Oncogene amplification in urothelial cancer with p53 gene mutation or MDM2 amplification. *J Natl Cancer Inst* 86: 1331-1335.
65. Hammond EC, Horn D. 1958. Smoking and death rates; report on forty-four

months of follow-up of 187.783 Men. Death rates by cause. *J Am Med Assoc* 166: 1294-2003.

66. Heney NM, Ahmed S, Flanagan MJ et al. 1983. Superficial bladder cancer progression and recurrence. *J Urol* 130: 573-580.

67. Herr HW, Donat SM, Bajorin DF. 2001. Bladder cancer, the limits of surgical excision-when, how much?- *Urol Oncol* 6:221-4.

68. Heyd ML, Eynard AL. 2003. Effects of eicosatrienoic acid (20:3 n-9, Mead s acid) on some promalignant-related properties of three human cancer cells lines. *Prostagl Other Lipid Mediat* 71: 177-188.

69. Hickman ES, Moroni MC, Helin K. 2002. The role of p53 and pRB in apoptosis and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 12: 60-66.

70. Holmang S, Hedelin H, Anderstrom C, Holmberg E, Busch C, Johansson SL. 1999. Recurrence and progression in low grade papillary urothelial tumors. *J Urol* 162:702-7.

71. Hopenhaim-Rich C, Biggs ML, Fuchs A, Bergoglio R, Tello EE, Nicolli H, Smith AH. 1996. Bladder Cancer mortality associated with arsenic in drinking water in Argentina. *Epidemiology*. 2:117-24.

72. Huerper WC, Wiley FH, Wolfe HD. 1938. Experimental production of bladder tumors in dogs by administration of beta-naftilamina. *J Ind Hyg Toxicol* 20: 46-84.

73. Imao T, Koshida K., Endo Y et al. 1999. Dominant role of E-Cadherin in the progresión of bladder cancer. *J Urol* 161: 692-8

74. Ivanov DB, Philippova MP, Tkachuk VA. 2001. Structure and functions of Classical Cadherins. *Biochemistry* 66: 1174-1186.

75. Ioachim E, Charchanti A, Stavropoulos NE, Skopelitou A, Athanassiou ED, Agnantis NJ. 2000. Inmunohistochemical expression of retinoblastoma gene product (Rb), p53 protein, MDM2, c-erbB-2, HLA-DR and proliferation indices in human urinary bladder carcinoma. *Histol Histopathol* 15: 721-727.

76. Ishikawa J, Xu HJ, Hu SX, Yandell DW, Maeda S, Kamidono S, Benedict WF, Takahashi R. 1991. Inactivation of the retinoblastoma gene in human bladder and renal cell carcinomas. *Cancer Res* 51: 5736-5743.

77. Jaeger T, Weidner N, Chew K. 1994. Tumor angiogenesis correlates with lymph node metastasis in invasive bladder cancer. *J Urol* 154:69-71.

78. Jordan AM, Weingarter J, Murphy WM. 1987. Transitional cell neoplasms of the urinary bladder: can biologic potential be predicted from histological grading? *Cancer* 60: 2766-2774.

79. Jiang WG, Redfern A, Eynard A and RE Mansel. 2000. "Polyunsaturated fatty acids and their role in cancer invasion and metastasis" in *Cancer Metastasis, molecular and cellular mechanisms and Clinical Intervention*, Eds. WG Jiang and RE Mansel, Kluwer Academic Publishers, Netherlands, 225-250
80. Kagan J, Liu J, Stein JD, Wagner SS, Babkowski R, Grossman BH, Katz RL. 1998. Cluster of allelic losses within a 2,5 cM region of chromosome 10 in high-grade invasive bladder cancer. *Oncogene* 16: 909-913.
81. Kaldor JM, Curtis MD, Glimelius D et al. 1995. Bladder tumor following chemotherapy and radiotherapy for ovarian cancer: a case-control study. *Int J Cancer* 63: 1-6.
82. Kalbfleish J, Prentice R. 1980. *The Statistical Analysis of Failure Time*, New York, Ed. John Wiley, pp 142-180.
83. Kaye KW, Lange PH. 1982. Mode of presentation of invasive bladder cancer: reassessment of the problem. *J Urol* 128:31-3.
84. Karayanniakys A, Syrigos KN, Chatzigianni E, Papanikolaou S, Katatsas G. 1998: E-Cadherin expression as a differentiation marker in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 45:2437-2442.
85. Keep JC, Piehl M, Miller A, Oyasu R. 1989. Invasive carcinomas of the urinary bladder. *Am J Clin Pathol* 91:575-9
86. Kimberly M., Rieger-Christ PhD, Jason W, Cain BS et al. 2001. Expression of classic Cadherins Type I in Urothelial Neoplastic Progression. *Hum Pathol* 32: 18-23.
87. King ED, Matteson J, Jacobs SC, Kyprianou N. 1996. Incidence of apoptosis, cell proliferation and bcl-2 expression in transitional cell carcinoma of the bladder: association with tumor progression. *J Urol* 155:316-20.
88. Knowles M A. 1999. Identification of novel bladder tumor suppressor genes. *Electrophoresis* 20: 269-79.
89. Koksai IT, Ates M, Danisman A, Sezer C et al. 2006. Reduced E-Cadherin and alpha catenin expressions have no prognostic role in bladder carcinoma. *Pathol Oncol Res.* 81:13-9.
90. Kondylis FI, Demirci S, Ladaga L, Kolm P, Schellhammer PF. 2000. Outcomes after intravesical bacillus Calmette-Guerin are not affected by substaging of high grade T1 transitional cell carcinoma. *J Urol* 65:1120-3.
91. Koss LG. 1975. Tumors of the urinary bladder. *Atlas of Tumor Pathology, 2<sup>nd</sup> Series, Fascicle 11*. Washington, D.C.: Armed Forces Institute of Pathology

92. Koss LG Tumors of the urinary bladder. 1985. Atlas of Tumor Pathology, 2<sup>nd</sup> Series, Fascicle 11. Washington, D.C.:Armed Forces Institute of Pathology 51-3.
93. Kudson AG Jr. 1985 Hereditary Cancer, Oncogenes and antioncogenes. *Cancer Res.* 45: 1437.
94. Kurth KH, Denis L, Bouffieux C et al. 1995. Factors affecting recurrente and progression in superficial bladder tumors. *Eur J Cáncer* 31: 1840-1846.
95. Lascombe I, Clairotte A, Fauconnet S, et al. 2006. N-cadherin as a novel prognostic marker of progression in superficial urotelial tumors. *Clin Cancer Res* 12 : 2780-7.
96. Lebret T, Bohin D, Kassardjian Z, et al. 2000 Recurrence, progression and success in stage Ta grade 3 bladder tumors treated with low dose bacillus Calmette Guerin instillations. *J Urol* 163:63-7.
97. Levesque P, Ramchurren N, Saini K, Joyce A, Libertino J, Summerhayes IC. 1993. Screening of human bladder tumor and urine sediments for the presence of H-ras mutations. *Int J Cancer* 55: 785-790.
98. Limas C, Lange P. 1982. A, B, H antigen detectability in normal and neoplastic urothelium: influence of methodologic factors. *Cancer* 49:2476-84.
99. Liukkonen T, Lipponen P, Raitanen M, Kaasinen E, Ala-Opas M, Rajala P, Kosma VM. 2000. Evaluation of p21WAF1/CIP1 and cyclin D1 expression in the progression of superficial bladder cancer. Finbladder Group. *Urol Res* 28: 285-292.
100. Logothetis CJ, Xu HJ, Ro JY, Hu SX, Sabin A, Ordonez N, Benedict WF. 1992. Altered expression of retinoblastoma protein and known prognotic variables in locally advanced bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 84: 1256-1261.
101. Lopez Beltran A, Croghan GA, Croghan I et al. 1992. Prognostic factors in survival in bladder cancer . *Cancer* 70:799-807.
102. Luciani LG, Neulander G, Murphy WM et al. 2001. Risk of continued intravesical therapy and delayed cistectomy in BCG-refractory superficial bladder cáncer: an investigational approach. *Urology* 58: 376-379
103. Lutzeyer W, Rubben H, Dham H. 1982. Prognostic parameters in superficial bladder cancer: an analysis of 315 cases. *J Urol* 127:131.
104. Mc Cullagh J & Nelder P, 1989. Generalized Linear Models. New Cork, Chapman & Hall, pp 49-75.
105. Malmstrom et al. 2002. Early metastasic progresión: Molecular profile in primary bladder tumor *J Urol* 168: 2240-4.

106. Mahnken y col. 2005. E-Cadherin Immunoreactivity and recurrence and progression of minimally invasive bladder cancer. *Oncol Rep* 14:1065-70
107. Marcus PM, Vineis P, Rothman. 2000. NAT2 slow acetylation and bladder cancer risk: a meta-analysis of 22 case-control studies conducted in the general population. *Pharmacogenetics* 10: 115-122.
108. Matos EL y Loria DI. 2003. Atlas de Mortalidad por Cáncer, Argentina 1997-2001, Buenos Aires, Argentina.
109. May M, Nitzke C, Vogler H, Hoschke B. Significance of the time period between diagnosis of muscle invasion and radical cystectomy with regard to the prognosis of transitional cell carcinoma of the urothelium in the bladder *Scand J Urol Nephrol* 2004; 38:231-5.
110. Messing EM. Clinical implications of the expression of epidermal growth factor receptors in human transitional cell carcinoma. *Cancer Res* 1990;50:2530-7.
111. Mhawech-Fauceglia P, Fisher G, Beck A, Cheney RT, Herrmann FR. Raf 1, Aurora-A/STK 15 and E-Cadherin biomarkers expression in patients with p Ta/p T1 urothelial bladder carcinoma; a retrospective TMA study of 246 patients with long term follow-up. *Eur. J. Surg. Oncol.* 2006- May; 32(4):439-444.
112. Miahle A, Levacher G., Champelovier P., Martel V., Serres M., Knudsen K., Seigneurin D. 2000.: Expresión of E-, P-, N- cadherins and catenins in human bladder carcinoma cell lines *J Urol* 164:826-835.
113. Millan-Rodriguez F, Chechile-Toniolo G, Salvador-Bayarri J et al: Primary superficial bladder cancer risk group according to progression mortality and recurrence. *J Urol* 2000; 164: 680-684.
114. Moyano Calvo JL., Blanco Palenciano E., Beato Moreno A et al. Prognostic value of E- Cadherin, beta-catenin, Ki-7 and p 53 protein in the superficial bladder tumors. *Actas Urol Esp* 2006 30: 871-8.
115. Mostofi FK, Davis CJ, Sesterhenn IA, et al. Histological typing of urinary bladder tumours. International histological classification of tumours, 2<sup>nd</sup> ed. Springer, Berlin: World Health Organization; 1999.
116. Mostofi, FK, Sobin LH, Torloni H. Histological typing of urinary bladder tumours. International histological classification of tumours, No 10. Geneva: World Health Organization, 1973.
117. Murphy WM. Diseases of the urinary bladder, urethra, ureters, and renal pelves. In: Murphy WM, ed. *Urological pathology*. Philadelphia: WB Saunders; 1997:64-98.

118. Murphy WM, Becwith JB, Farrow GM. Tumors of the kidney, bladder and related urinary structures. Atlas of tumor pathology, 3<sup>o</sup> series, fascicle 11, Washington DC, Armed Forces Institute of Pathology. Pp 193-288.
119. Murphy W., Grignon D, Perlman E., 2004 . Tumors of the kidney, bladder and related urinary structures. Atlas of tumor pathology, 4<sup>o</sup> series, fascicle 1, Washington DC, Armed Forces Institute of Pathology. Pp 241-361.
120. Murphy W, Takezawa K, Mauruniak NA. 2002. Interobserver discrepancy using the 1998 World Health Organization/International Society of Urological Pathology classification of urothelial neoplasms: practical choices for patient care. *J Urol*;168:968-72.
121. Nakopoulou L, Zervas A., Gakiopoulou-Givalou H, Constantinides C. et al. 2000. Prognostic value of E-Cadherin, beta-catenin, P-120ctn in patients with transitional cell bladder cancer. *Anticancer Res.* 20:4571-8.
122. Narayana AS, Loening SA, Slymen LJ, Culp DA. 1983. Bladder cancer: factors affecting survival. *J Urol* 130:56.
123. Navarro A, Andreatta MM, Muñoz S, Lantieri M, Eynard A 2008. The effect of artificial sweetener consumption on the risk of urinary tract tumors in Cordoba, Argentina. *Preventive Medicine* 47: 136-139, 2008
124. Oka H., Shiosaki H., Kobayashi K, Takatsuka Y et al. 1993. Expression of E-Cadherin cell adhesion molecules in human breast cancer tissues and its relationship to metastasis. *Cancer Res*, 53:1696-1701.
125. Okamura K, Miyake K, Koshikawa T, Asai J. 1990. Growth fractions of transitional cell carcinomas of the bladder defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Urol* 144:875-8.
126. Olivier M, Eeles R, Hollstein M, Khan MA, Harris CC, Hainaut P. 2002. The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. *Hum Mutat* 19: 607-614.
127. Ooms, EC, Anderson, WA, Alons CL, Boon ME. 1983. Analysis of the performance of pathologist in the grading of bladder tumors. *Hum Pathol.* 14:140.
128. Oosterlink W, Lobel B, Jakse G et al. 2002. Guidelines of bladder cancer. *Eur Urol* 41:105-112.
129. Orlando C, Sestini R, Vona G, Pinzani P, Bianchi S, Giacca M, Pazzagli M, Selli C. 1996. Detection of c-erbB-2 amplification in transitional cell bladder carcinoma using competitive PCR technique. *J Urol* 156: 2089-2093.
130. Orntofl TF, Wolf H., 1998. Molecular alterations in bladder cancer. *Urol Res* 26 : 223-33.

131. Otto T., Bex A, Schimidt U., Raz A.,Rübben H. 1997. Improved Prognosis Assessment for Patients with Bladder Carcinoma. *Am J Pathol* 150:1919-1923.
132. Oya M, Schmidt B, Schmitz-Drager BJ, Schulz WA (1998). Expression og G1->S Transition regulatory molecules in human urothelial cancer. *Jpn J Cancer Res* 89: 719-726.
133. Parkin DM, Whelan SL, Felay J et al. 2002. *Cáncer Incidente in Five Continents, Volume VIII (155)*. Lyon, France, IARC Publications.
134. Parmar, MK, Freedman FS, Hargreave, TB et al: Prognostic factor for recurrente and followup policies in the treatment of superficial bladder cancer: report of the British Medical Research Council Subgroup on Superficial Bladder Cancer. *J Urol* 1989; 142: 2186-2190).
135. Pasqualini ME, Heyd VL, Manso P, Eynard AR. 2003 Association between E-cadherin expression by human colon, bladder and breast cancer cells and the 13-HODE:15-HETE ratio. A possible role of their metastatic potential. *Protagl, Leuk Essent Fatty Acids* 68: 9-16.
136. Patrianakos C, Hoffman D. On the análisis of aromatic amines in cigarette smoke. 1979. *J Anal Toxicol* 3:150-154.
137. Pawinsky K, Sylvester R, Kurt KH et al. 1996 A combined analysis of EORTC and MCR randomized clinical trials for the prophylactic treatment of stage Ta-T1 of bladder cancer. *J Urol*; 156: 1934-1941.
138. Philip AT, Amin MB, Ro JY. 2000. Intravesical adipose tissue:a quantitative study of its presence and location with implications for therapy and the prognosis. *Am J Surg Pathol* 24:1286-90.
139. Pignatelli M. Anzari TW, Gunter P, Liu D, Hirano S, Takeichi M., Kloppel G, Lemoine NR. 1994. Loss of membranous E- Catherine expression in pancreatic cancer, correlation with lymp node metastasis, hiagh grade and advanced stage. *J. Pathol*, 174:243-248.
140. Platz CE, Cohen MB, Jones MP, Olson DB, Lynch CF. 1996. Is microstaging of early invasive cancer of the urinary bladder possible or useful? *Mod Pathol* 11:1035-9.
141. Przybylo M., Lucowicz D., Litynska A, Laidler P 2002. Different glicosylation of cadherins from human bladder non malignant and cancer cell lines. *Cancer cell international*, 2:6.
142. Qureshi et el. 2006. E-Cadherin status in breast cancer correlates with histologic type but does not correlate with established prognostic parameters. *Am J. Clin. Pathol*, Mar; 125:377-85.

143. Quek ML, Quin DI, Daneshman S et al. 2003. Molecular pronostication in bladder cancer- a current perspective. *Eur J Cancer* 39: 1501-1503.
144. Rao KV, Detrisac CJ, Steel VE et al. 1996. Differential activity of aspirin, ketoprofen and sulindac as cáncer chemopreventive agents in the mouse urinary bladder. *Carcinogenesis* 17:1435-1438.
145. Ravery V, Grignon DJ, Angulo J, Pontes E, Montie J, Crissman J, Chopin D. 1997. Evaluation of epidermal growth factor receptor, transforming growth factor alpha, epidermal growth factor and c-erbB-2 in the progression of invasive bladder cancer. *Urol Res* 25:9-17.
146. Reid LM, Leav I, Kwan PW et al. 1984 Characterization of human sex steroid-responsive transitional cell carcinoma maintained as a tumor line (R198) in athymic nude mice. *Cáncer Res* 44:4560- 4573.
147. Reuter VE. Urinary bladder and ureter, 1992. In: Sternberg SS, ed. *Histology for pathologists*. New York: Raven Press 709-19.
148. Reuter VR, Epstein JI, Amin MB, et al. 1999. A newly illustrated synopsis of the World Healthly Organization/International Society of Urological Pathology (WHO/ISUP) consensus classification of urothelial (transitional-cell) neoplasms of the urinary bladder. *J Urol Pathol* 11:1-27.
149. Reuter F, Melamed M. 1994. The coger urinary tract. En: Stenberg S.: *Diagnostic Surgical Pathology 2º N Cork*, Ed..Raven Press Ltd, pp1767-1805.
150. Rieger-Christ K, Cain J, Braasch J., Dugan J., Silverman N et al. 2001 Expression of Classic Cadherins Type I in Urotelial Neoplastic Progression *Hum Pathol* 32):18-23
151. Rosai J. *Surgical Pathology ninth edition*. Elsevier Ed. China, 2004
152. Roos RK, Jones PA, Yu MC. 1996 Bladder cancer epidemiology and patoghnesis. *Semin Oncol* 23: 536-545.
153. Ross JF, del Rosario AD, Figge HL et al. 1995. E-cadherin expresión in papillary transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Hum Pathol* 26: 940-944.
154. Sarkis AS, Dalbagni G, Cordon Cardo C et al. 1993. Nuclear overexpression of p 53 protein in transitional cell bladder carcinoma: A marker for disease progression. *J Natl Cancer Inst* 85:53-59.
155. Sauter G, Moch H, Moore D, Carroll P, Kerschmann R, Chew K, Mihatsch MJ, Gudat F, Waldman F 1993. Heterogeneity of erbB-2 gene amplification in bladder cancer. *Cancer Res* 53: 2199-2203.
156. Serdar A., Turhan C., Soner G., et al. 2005. The prognostic importance of E-

Cadherin and p 53 gene expression in transitional bladder carcinoma patients *Int Urol Nephrol* 37: 485-92.

157. Shariat SF, Pahlavan S, Baseman AG, Brown RM, Green AE, Wheeler TM., Lerner SP. 2001. E-Cadherin expression predicts clinical outcome in carcinoma in situ of the urinary bladder. *Urology* 57:60-5.

158. Shin KY, Kong G, Kim WS, Lee TY, Woo YN, Lee JD, 1997. Overexpression of cyclin D1 correlates with early recurrence in superficial bladder cancers. *Br J. Cancer* 75: 1788-1792.

159. Sobin LH, Wittekind CH 89 (eds.)1997. TNM classification of malignant tumors, 5° ED. New York, Wiley.

160. Solsona E, Iborra I, Ricos JB et al. 1999. Effectiveness of a single immediate mitomycin C instillation in patients with low risk superficial bladder cancer: short and long-term follow-up. *J Urol* 1120-1123.

161. Stavropoulos NE, Filliadis I, Ioachim E, Michael M et al. 2001. C- D 44 standard form expression as a predictor of progression in high risk superficial bladder tumors. *Int Urol Nephrol* 33: 479-83.

162. Sturgeon SR, Hartge P, Silverman DT et al. 1994. Association between bladder cancer risk factors and tumor stage and grade at diagnosis. *Epidemiology* 5:218- 225.

163. Sun W, Herrera G. 2004. E-Cadherin expression in invasive urothelial carcinoma. *Ann Diagn Pathol* 8:17-22.

164. Sun W., Herrera G. 2002. E- Cadherin expression in urothelial carcinoma in situ, superficial papillary transitional cell carcinoma and invasive transitional cell carcinoma. *Hum Pathol* 10: 996-1000.

165. Sylvester RJ, Lamm DJ. 2002. Intravesical bacillus Calmette Guerin reduces the risk of progression in patients with superficial bladder cancer: a meta-analysis of the published results of randomized clinical trials. *J Urol* 168: 1964-1970.

166. Sylvester RJ, Oosterlink W, van der Meijden AP. 2004. A single immediate post-operative instillation of chemotherapy decreases the risk of recurrence in patients with stage Ta-T1 bladder cancer: a meta-analysis of published results of randomized clinical trials. *J Urol* 171: 2186-2190.

167. Syrigos K, Harrington J, Waxman T et al. *J Urol* 160, 1889-1893.

168. Szekely et al. *Pathol Oncol Res* 2006 ; 12: 73-7 E-Cadherin expression in transitional cell carcinomas

169. Taddei I, Piazzini M., Bartoletti R, et al. 2000. Molecular alterations of E-Cadherin gene: Possible role in human bladder carcinogenesis. *Int J Mol Med* 6: 201-208.

170. Travis LB, Curtis RB, Glimelius B et al. 1995. Bladder and kidney cancer following cyclophosphamide therapy for non Hodgkin lymphoma. *J Natl Cancer Inst* 87:124-130.
171. Tomonori Habuchi, Osamu Ogawa, Yoshiyuki Kakehi. 1992. Allelic loss of chromosome 17 p in urothelial cancer: strong association with invasive phenotype. *J Urol* 148:1595-1599.
172. Tyrkus, Powell, Fakr, Cytogenetic studies of carcinoma in situ of the bladder, prognostic implication, *J Urol* 1992, 148: 44.
173. Umbas R, Isaacs WB, Bringuier PP, Schaafsma HK, Katthaus HFM, Oosterhof G, Debruyne FMJ, Scxhalken JA 1994. Decreased E-cadherin expression is associated with poor prognosis in patients with prostate cancer. *Cancer Res* 54:3929-3933.
174. Wagner U, Suess K, Luginbuhl, T, Schmid U, Ackermann D, Zellweger T, Maurer R, Alund G, Knonagel H, Rist M, Jordan P, Moch H, Mihatsch MJ, Gasser TC, Sauter G. 1999. Cyclin D1 overexpression lacks prognostic significance in superficial urinary bladder cancer. *J Pathol* 188: 44-50.
175. Wiese FW, Thompson PA, Kadlubar FF. 2001 Carcinogen substrate specificity of human COX -1 and COX-2. *Carcinogenesis* 22: 5-10.
176. Williams SG, Stein JP. 2004. Molecular pathways in bladder cancer. *Urol Res* 32 (6:373-85).
177. Witjes JA, Debruyne FMJ. Risk assessment and treatment of superficial bladder cancer. In *Comprehensive Textbook of Genitourinary Urology*. Vogelzang NJ, Scardino PT et al. editors. Lippincott Williams and Wilkins. Philadelphia 2006.
178. Wood DP Jr, Montie JE, Pontes JE, Levin HS. 1989. Identification of transitional cell carcinoma of the prostate and bladder cancer patients: a prospective study. *J Urol* 142:83-5.
179. Wu XR, Lin JH, Walz T, et al. 1994. Mammalian uroplakins. A group of highly conserved urothelial differentiation-related membrane proteins. *J Biol Chem* 269:13716-24.
180. Yap A S. 1998. The morphogenetic role of Cadherin cell adhesion molecules in human cancer: A thematic review. *Cancer Invest* 16: 252-61.

## **ANEXO:**

### **Certificación de casos**

Certifico que en el siguiente listado de historias clínicas corresponde a los pacientes que integran la muestra de estudio, encontrándose las mismas a disposición en el archivo del Hospital Córdoba y Clínica Sucre.

Del grupo de casos:

**VB**

1. 1377 (Clínica Sucre)
2. 783 (Clínica Sucre)
3. 3333 (Clínica Sucre)
4. 2291 (Clínica Sucre)
5. 2486 (Clínica Sucre)
6. 3207 (Clínica Sucre)
7. 4057 (Clínica Sucre)
8. 3749 (Clínica Sucre)
9. 2113 (Clínica Sucre)
10. 2934 (Clínica Sucre)
11. 3104 (Clínica Sucre)
12. 1402 (Clínica Sucre)
13. 3977 (Clínica Sucre)
14. 3351 (Clínica Sucre)
15. 2126 (Clínica Sucre)
16. 1993 (Clínica Sucre)
17. 1723 (Clínica Sucre)
18. 5829 (Clínica Sucre)
19. 3314 (Clínica Sucre)
20. 2569 (Clínica Sucre)
21. 4017 (Clínica Sucre)
22. 3073 (Clínica Sucre)
23. 6926 (Clínica Sucre)
24. 7255 (Clínica Sucre)
25. 4165 (Clínica Sucre)
26. 3011 (Clínica Sucre)
27. 3267 (Clínica Sucre)
28. 1955 (Clínica Sucre)
29. 3345 (Clínica Sucre)
30. 3663 (Clínica Sucre)
31. 4055 (Clínica Sucre)
32. 228 (Clínica Sucre)

- 33. 414 (Clínica Sucre)
- 34. 4059 (Clínica Sucre)
- 35. 339 (Clínica Sucre)
- 36. 3819 (Clínica Sucre)
- 37. 1636 (Clínica Sucre)
- 38. 2761 (Clínica Sucre)
- 39. 4076 (Clínica Sucre)
- 40. 988 (Clínica Sucre)
- 41. 3820 (Clínica Sucre)
- 42. 512 (Clínica Sucre)
- 43. 4910 (Clínica Sucre)
- 44. 1668/00 (Hospital Córdoba)
- 45. 749/96 (Hospital Córdoba)
- 46. 3565 (Clínica Sucre)

## Presentación a Congresos y Concursos