

p53 for dummies



FILIPPO BIANCHI

Powered by ChatGPT

Indice del manuale

1. Cosa è la p53 (e la TP53)
 2. Dove si trova nei tessuti normali
 3. Cosa utilizzare come controllo interno nei tessuti privi di epitelio
 4. Pattern immunoistochimici di p53 e loro interpretazione
 5. Pattern nei tessuti patologici senza epitelio
 6. Quando è indicato (o no) fare la p53
 7. Discordanza immuno/molecolare
 8. Le trappole della p53 (errori interpretativi, falsi positivi/negativi)
 9. p53 nei linfomi e sarcomi (quando NON serve)
 10. Interpretazione quantitativa vs qualitativa
 11. Pattern citoplasmatico - quando e perché
 12. Come scrivere bene la p53 nel referto
 13. AI e p53: il futuro è già qui
 14. Casi clinici commentati
 15. Bibliografia essenziale commentata
-

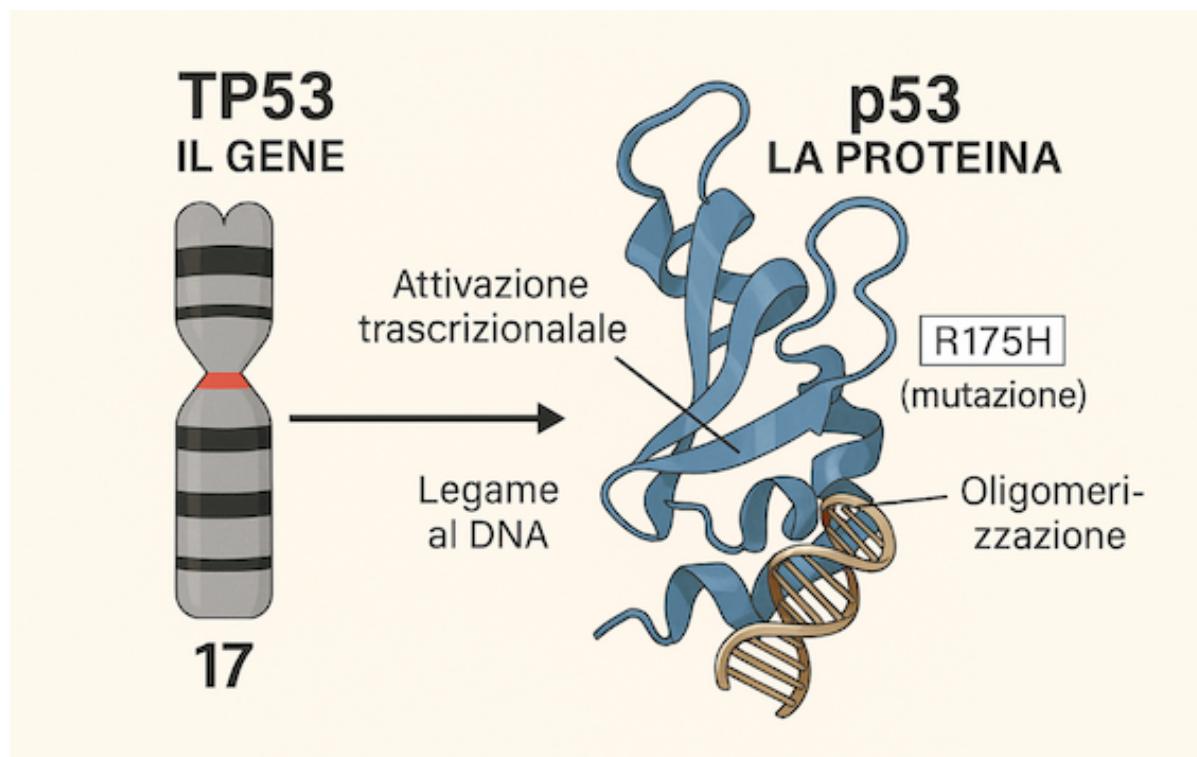
Prefazione

Questo manuale nasce come **strumento di sopravvivenza** per il patologo che si confronta quotidianamente con l'interpretazione immunoistochimica della p53. Senza la pretesa di sostituire i testi ufficiali, raccoglie suggerimenti pratici, esempi realistici, trappole da evitare e soprattutto buon senso diagnostico.

Con un pizzico di ironia, qualche schema e molte referenze aggiornate al settembre 2025, vuole essere una guida rapida ma scientificamente solida - da usare al volo, o da rileggere nei momenti di dubbio.

Principio guida: "*La p53 si interpreta, non si misura. Meglio un referto onesto che una diagnosi azzardata*".

Capitolo 1 - Cosa è la p53 (e la TP53)



Basi molecolari

La p53 è una proteina oncosoppressore di 53 kDa codificata dal gene **TP53** (cromosoma 17p13.1). Funziona come "guardiano del genoma", attivandosi in risposta a:

- Danno al DNA
- Stress ossidativo
- Ipoxia
- Attivazione oncogenica

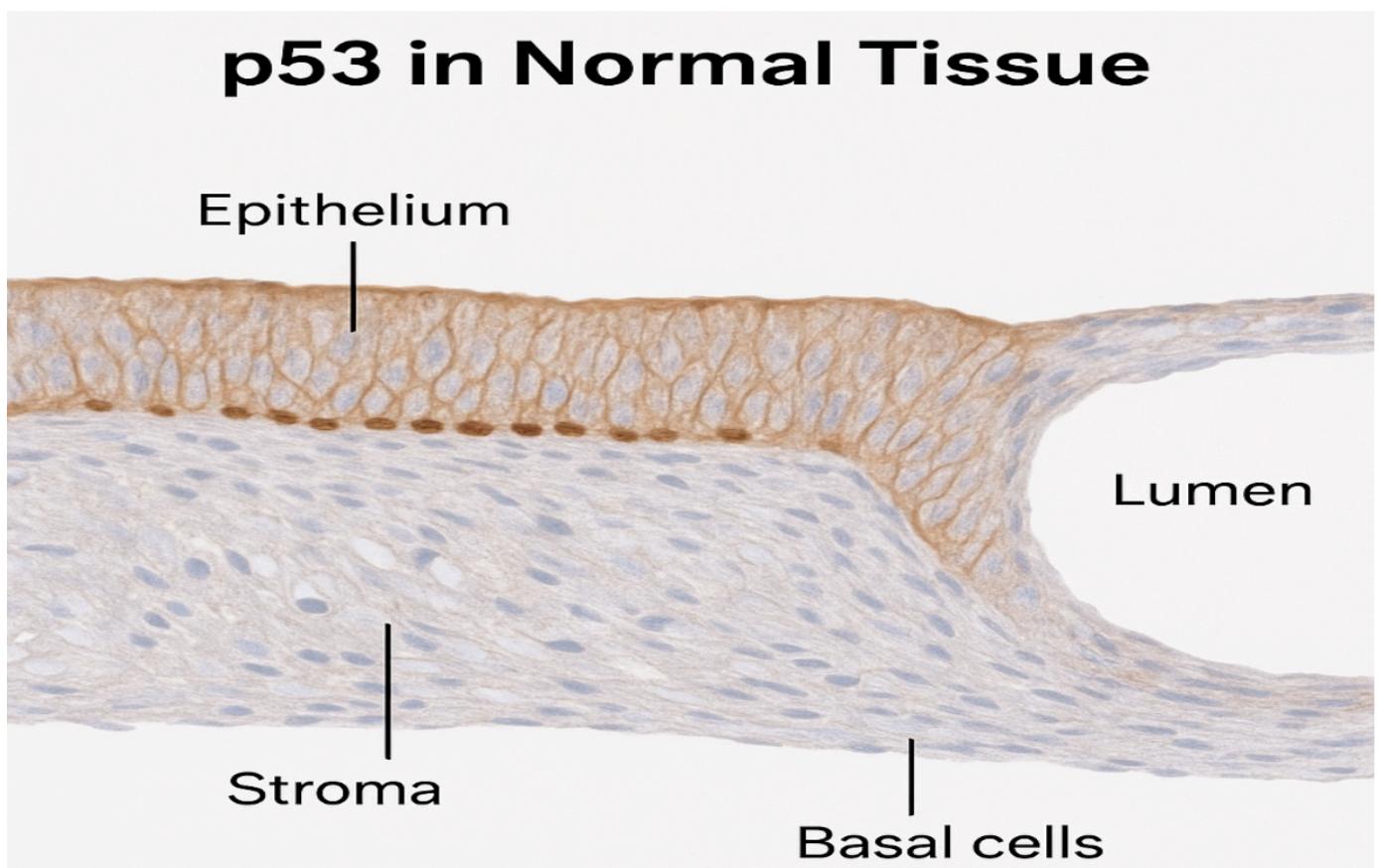
Struttura funzionale

- **N-terminale:** dominio di transattivazione
- **Core domain** (aa 102-292): legame al DNA - **qui avvengono il 95% delle mutazioni**
- **C-terminale:** tetramerizzazione e regolazione

Le mutazioni più frequenti

- **R175H, R248W, R273H:** hotspot nel DNA-binding domain
- **Mutazioni missense** (75%): proteina stabile ma non funzionale → overexpression
- **Mutazioni nonsense/frameshift** (25%): perdita proteica → pattern null

Capitolo 2 - Dove si trova nei tessuti normali



Nei tessuti normali, la p53 ha emivita brevissima (~20 minuti) ed è rilevabile solo nelle **cellule basali proliferanti**:

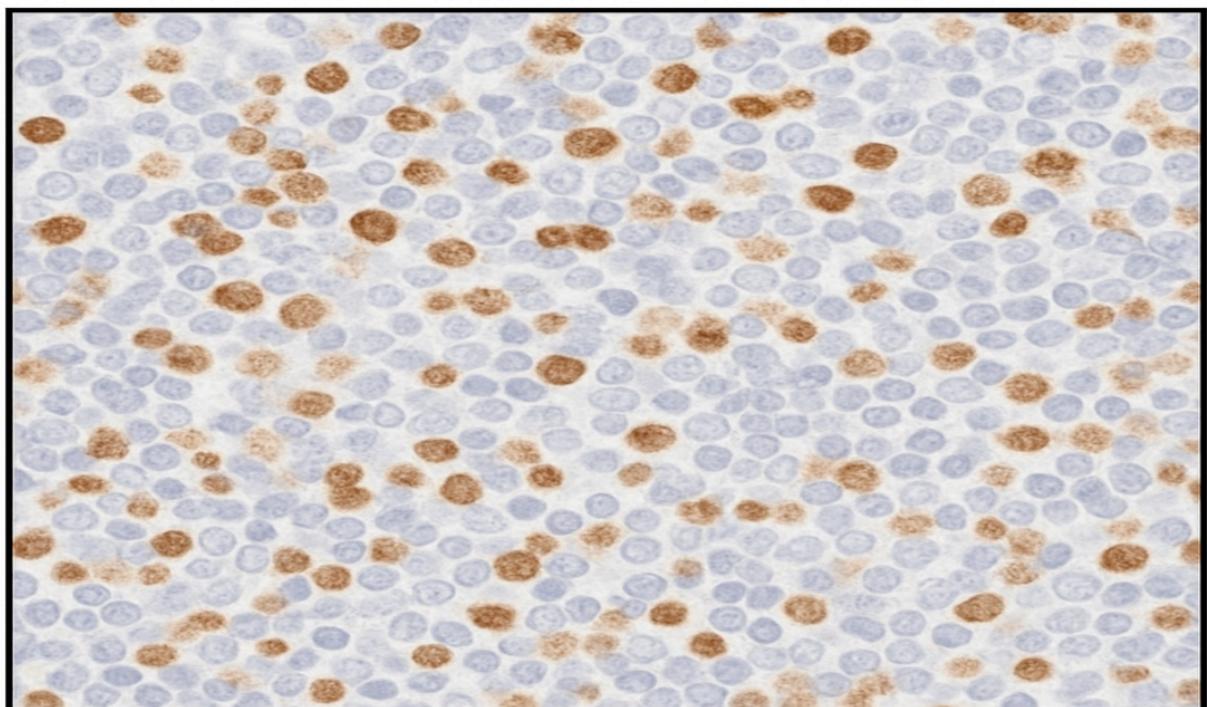
Pattern fisiologico

- **Epitelio squamoso:** strato basale e parabasale
- **Epitelio ghiandolare:** cellule staminali della cripta
- **Endometrio:** cellule stromali in proliferazione (fase proliferativa)
- **Cute:** cellule basali dell'epidermide e follicoli piliferi

⚠️ **Attenzione:** La p53 wild-type NON dovrebbe mai essere diffusamente positiva in tutti gli strati epiteliali.

Capitolo 3 - Controlli interni nei tessuti privi di epitelio

IN ASSENZA DI EPITELIO



IIC p53: nuclei linfocitari positivi,

Quando l'epitelio non c'è

In assenza di epitelio normale, il controllo interno si ricava da:

1. **Linfociti reattivi**
 - Positività generalmente **debole-moderata**
 - Eterogenea (non tutti i linfociti sono positivi)
2. **Cellule stromali attivate**
 - Fibroblasti in proliferazione
 - Cellule endoteliali in angiogenesi
3. **Cellule muscolari lisce** (rare volte positive)
4. **Epatociti** (solo se presenti)
 - Pattern tipicamente eterogeneo

Regola pratica

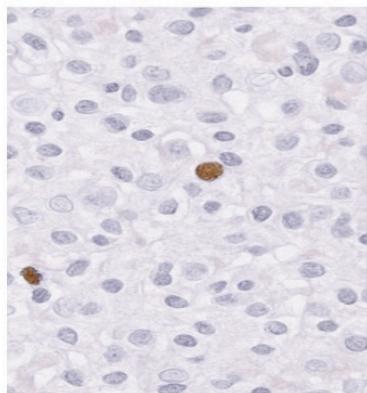
Controllo interno valido = almeno il 5-10% dei nuclei non tumorali debolmente positivi

Se tutto è negativo → colorazione tecnicamente inadeguata.

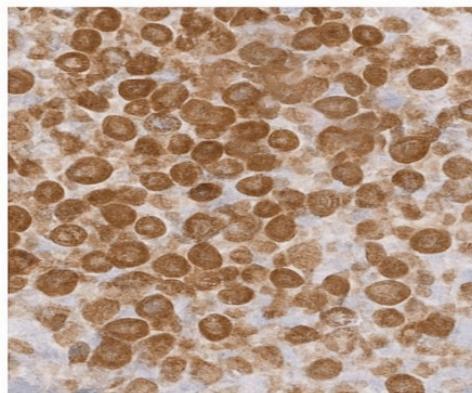
Capitolo 4 - Pattern immunoistochimici e loro interpretazione

Pattern di p53 nei tessuti patologici senza epitelio

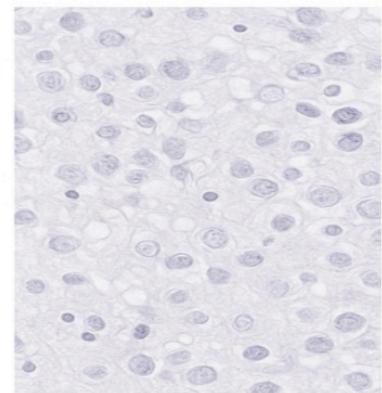
Pattern
wild-type



Pattern
overexpressed



Pattern
null



I quattro pattern principali

1. Wild-type (normale)

- Positività **eterogenea** (<50% nuclei)
- Intensità **variabile** (debole-moderata)
- Distribuzione **random**
- **Significato:** proteina funzionale, gene integro

2. Overexpressed (mutazione missense)

- Positività **diffusa** (>70% nuclei)
- Intensità **forte e uniforme**
- **Significato:** proteina mutata ma stabile

3. Null-type (mutazione troncante)

- **Completa negatività** delle cellule tumorali
- Controlli interni **positivi**
- **Significato:** perdita proteica per mutazione nonsense/frameshift

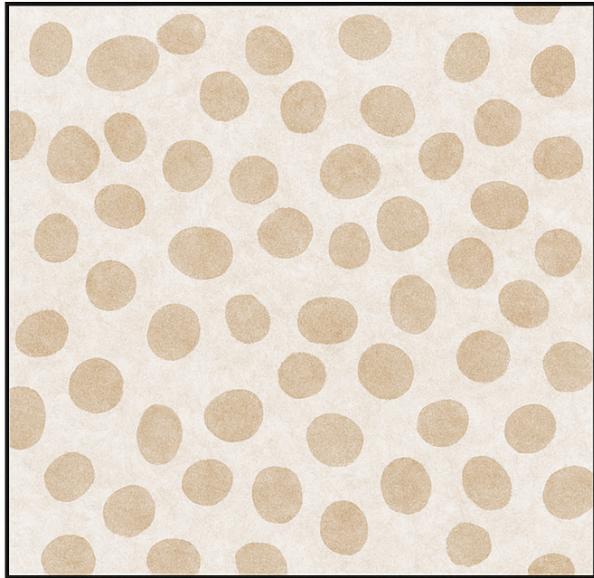
4. Citoplasmatico (raro)

- Positività **citoplasmatica** senza localizzazione nucleare
- **Significato:** mutazioni che alterano il trasporto nucleare

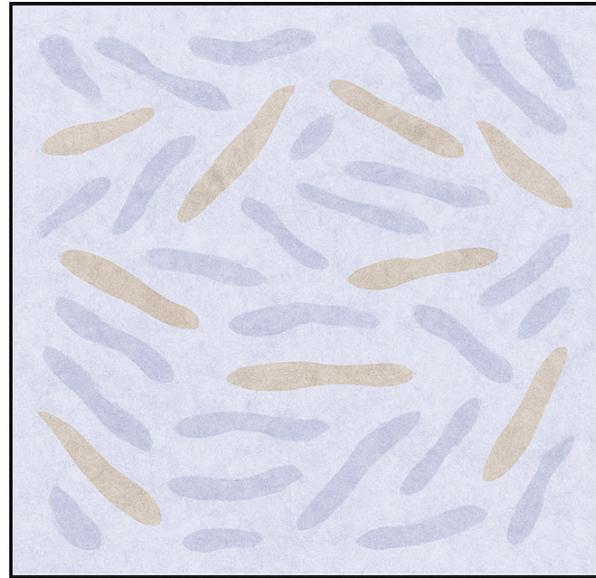
Intensità e percentuali - linee guida

- **0-10%**: wild-type
- **10-50%**: borderline (valutare intensità)
- **50-70%**: probabile overexpression
- **>70% forte**: overexpression (suggestivo mutazione)

Capitolo 5 - Pattern nei tessuti patologici senza epitelio



Lymphoma



Sarcoma

In linfomi, sarcomi o lesioni non epiteliali, è **essenziale** valutare cellule stromali o linfociti come controllo interno.

Regola d'oro: Un pattern 'null' è interpretabile solo con controllo positivo.

Controlli interni affidabili

- **Linfociti infiltranti:** sempre presenti, anche se sparsi
- **Cellule endoteliali:** spesso positive nei vasi di medio calibro
- **Fibroblasti attivati:** nelle aree di sclerosi o infiammazione

Capitolo 6 - Quando fare la p53 (e quando lasciarla in pace)



CASO CLINICO

Biopsia gastrica, quadro borderline. Il giovane patologo chiede: 'Faccio la p53 per confermare la displasia?'

Risposta corretta: Dipende.

● [VERDE] SEMPRE indicata:

- Carcinomi sierosi (ovaio, endometrio)
- Displasia di Barrett (alto grado o dubbia)
- Carcinoma endometriale non convenzionale
- Gliomi IDH-wt di alto grado

● [GIALLO] UTILE in contesto specifico:

- Displasia gastrica borderline
- Endometrio atipico (G3 o dubbio)
- Neoplasie indifferenziate da caratterizzare
- Sospetto Li-Fraumeni o carcinomi colorettali selezionati

● [ROSSO] NON indicata (quasi mai):

- Polipi iperplastici del colon
- Cisti sebacee, papillomi cutanei
- Fibromi uterini
- Lesioni benigne di cute o annessi
- **Qualsiasi caso in cui il risultato non cambia la diagnosi**

Flowchart decisionale

```

Fare la p53 in IIC?
  /   \
 /     \
[VERDE]      [ROSSO]
SEMPRE        NON indicata
indicata:      (quasi mai):
              

• Carcinomi sierosi
• Displasia di Barrett
• Carcinoma endometriale non convenz.
• Gliomi IDH-wt di alto grado
              

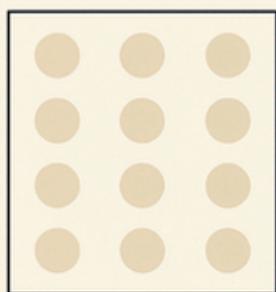
• Polipi iperplastici del colon
• Cisti sebacee
• Fibromi uterini
• Lesioni benigne di cute o annessi
• Qualsiasi caso in cui il risultato non cambia la diagnosi
  
```

Motto: *La p53 è utile se sai cosa aspettarti. Se non cambia la tua diagnosi, non serve.*

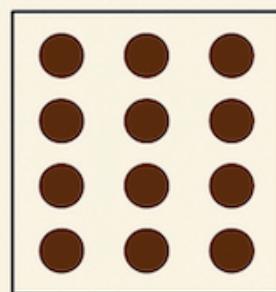
Capitolo 7 - Discordanza immuno/molecolare

Discordanza immuno/molecolare

**Wild-type
(IHC)**



**Mutato
(IHC)**



Mutazione →

Wild-type

**Wild-type
(molecolare)**

Definizione precisa

Discordanza = mancata corrispondenza tra pattern IIC e status molecolare TP53

Frequenza per sede anatomica (dati aggiornati 2024-2025)

- **Endometrio:** 8-12% (PORTEC-3 trial, Vermij et al. 2022)
- **Colon-retto:** 9-15% (Osakabe et al. 2024)
- **Ovaio sieroso:** 5-10% (studi più recenti)
- **Polmone:** 12-18% (dipende dall'istotipo)

Cause di discordanza

p53 wild-type in IIC ma TP53 mutato

1. **Mutazioni splice-site:** alterano la processazione dell'mRNA
2. **Mutazioni fuori dal DBD:** mantengono stabilità proteica

3. **Mutazioni del promotore:** rare ma possibili
4. **Mutazioni "silenti":** cambiano funzione ma non espressione

p53 alterata in IIC ma TP53 wild-type

1. **Stress ossidativo:** stabilizza p53 wild-type
2. **Infezione virale:** alcuni virus (HPV, EBV) alterano p53
3. **Polimorfismi:** varianti rare che alterano l'immunoreattività
4. **Errori tecnici:** più frequenti di quanto si creda

Quando sospettare discordanza

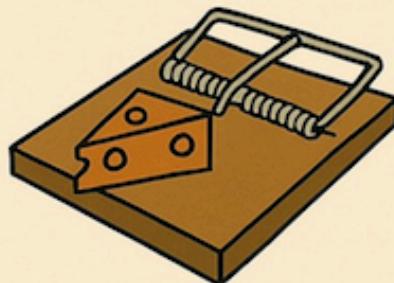
- Pattern borderline con clinica non congruente
- Istotipi rari dove la correlazione è meno studiata
- Pazienti giovani con pattern suggestivo di mutazione
- Terapie targeted dove conta lo status molecolare reale

Strategia diagnostica integrata

```
Pattern p53 dubbio + Clinica non congruente
↓
NGS TP53
↓
Referto integrato IIC/molecolare
```

Capitolo 8 - Le trappole della p53

Sette trappole della p53

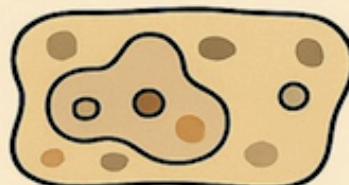


1 Controllo interno assente = interpretazione invalida

Se nessuna popolazione nucleata è positiva non valutare p53

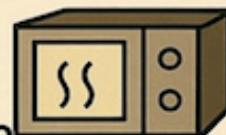
2 Positività citoplasmatica

La p53 è nucleare.
Colore marrone nel citoplasma = artefatto



4 Cellule stromali, muscolari, endoteliali

Valutare solo le cellule epiteliali, non quelle di contorno



5 Antigen retrieval troppo spinto

Eccesso di calore può causare falsa iperespressione



6 p53 mutata ma pattern wild-type

Alcune mutazioni non stabilizzano la proteina



7 Overinterpretazione in displasia

Una forte colorazione da sola non implica mutazione

Errori interpretativi, falsi positivi/negativi

Nel contesto dell'immunoistochimica per p53, esistono diversi trabocchetti interpretativi che possono indurre in errore anche il patologo esperto. Ecco le **sette trappole più comuni** da evitare:

Trappola #1: Il falso overexpressed

Scenario: Flogosi cronica, rigenerazione tissutale

Pattern: Positività diffusa ma **eterogenea in intensità**

Soluzione: Valutare il contesto istologico - se c'è infiammazione, sospettare falso positivo

Trappola #2: Il null-type senza controlli

Scenario: Tutto negativo, nessun controllo interno
Errore: Interpretare come pattern null
Soluzione: Ripetere la colorazione o dichiararla non valutabile

Trappola #3: La rigenerazione post-chemio

Scenario: Epitelio in rigenerazione dopo trattamento
Pattern: Overexpression nelle cellule riparative
Soluzione: Datare la biopsia rispetto ai trattamenti

Trappola #4: Il pattern mosaico

Scenario: Alternanza di aree positive/negative
Interpretazione: Spesso wild-type con artefatti di fissazione
Soluzione: Concentrarsi sulle aree meglio conservate

Trappola #5: Le cellule apoptotiche

Scenario: Nuclei in apoptosis spesso p53-positivi
Pattern: Positività in cellule picnotiche
Soluzione: Non contarle nella valutazione

Trappola #6: Il clone anticorpale sbagliato

Scenario: Cloni non validati o diluizioni inappropriate
Risultato: Pattern inconsistenti
Soluzione: Usare cloni standardizzati (DO-7, BP53-11)

Trappola #7: L'overinterpretazione borderline

Scenario: Pattern intermedio (30-60% positività)
Errore: Forzare l'interpretazione verso overexpressed
Soluzione: Refertare come "pattern indeterminato" e considerare NGS

Capitolo 9 - p53 nei linfomi e sarcomi (quando NON serve)

La regola fondamentale

Nei linfomi B-cellulari, l'analisi molecolare diretta di TP53 è raccomandata rispetto alla p53 IIC (de Haan et al. 2024)

Quando la p53 è inutile

- **Linfomi follicolari:** la correlazione IIC/molecolare è scarsa
- **Sarcomi dei tessuti molli:** pattern spesso non interpretabili
- **Tumori neuroendocrini:** meglio cromogranina e sinaptofisina

Quando può essere utile

- **Linfoma diffuso a grandi cellule B:** solo in centri specializzati
- **Sarcomi pleomorfi:** come parte di un pannello più ampio

Consiglio pratico: Se non sai perché stai facendo la p53 in un linfoma, probabilmente non dovresti farla.

Capitolo 10 - Interpretazione quantitativa vs qualitativa



La filosofia di base

La p53 non è una proteina che si conta, è **una proteina che si interpreta**.

Quando la valutazione è qualitativa (sempre)

- **Wild-type:** positività nucleare nei soli strati basali → pattern fisiologico
- **Overexpressed:** positività intensa e diffusa → mutazione missense
- **Null-type:** nessuna positività tumorale con controllo interno positivo → mutazione troncante

Quando può servire una stima quantitativa

Può essere utile in:

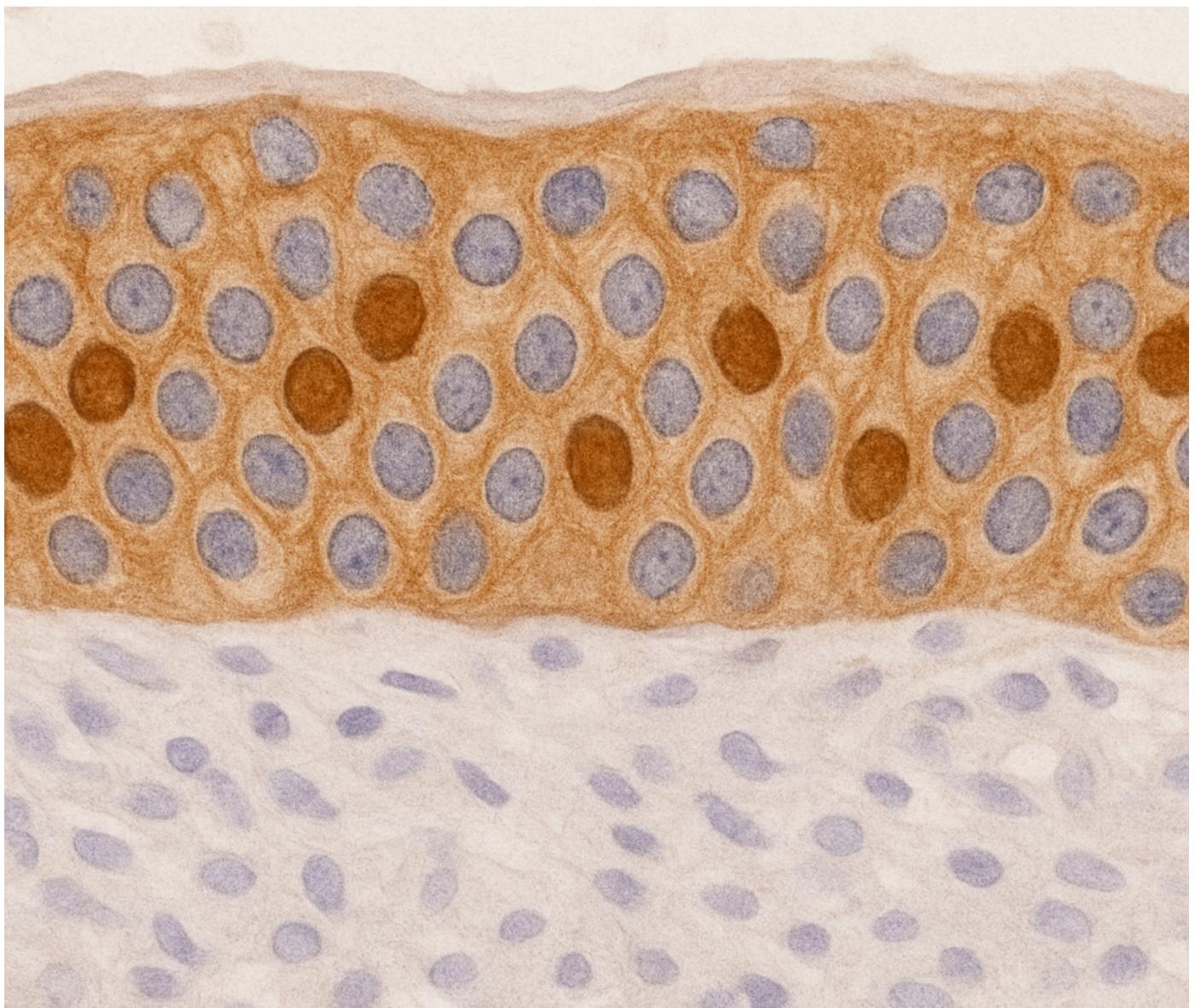
- Studi clinici
- Algoritmi predittivi
- Situazioni borderline (es. displasia gastrica, G2/G3 endometriali)

Esempi pratici

- **Positività nel 20% random:** wild-type, nessun valore clinico
- **Positività intensa nel 90%:** overexpressed → mutazione probabile
- **Tumorali negative ma linfociti positivi:** null-type
- **Tutto negativo:** IIC invalutabile

Conclusione: Un numero senza contesto è solo rumore. Il patologo è un esperto in morfologia, non un contatore Geiger.

Capitolo 11 - Pattern citoplasmatico - quando e perché



Pattern citoplasmatico di p53

Quando si verifica

Il pattern citoplasmatico è **raro ma clinicamente significativo** (<2% dei casi).

Meccanismo molecolare

- **Mutazioni negli esoni 9-10:** alterano i segnali di localizzazione nucleare
- **Mutazioni nell'NES** (Nuclear Export Signal)
- **Alterazioni delle chaperonine** (HSP90, MDM2)

Riconoscimento

- **Positività citoplasmatica diffusa**
- **Nuclei completamente negativi**
- **Controlli interni nucleari positivi**

Significato clinico

- **Equivale a mutazione funzionale**
- **Prognosi simile al null-type**
- **Spesso sottovalutato** come "artefatto tecnico"

Non confondere con

- Colorazione aspecifica (di solito granulare)
- Artefatti di fissazione (eterogenei)
- Cross-reazioni (validate con controlli)

Capitolo 12 - Come scrivere bene la p53 nel referto

Refertazione corretta

✓ p53: pattern wild-type
→ nessuna mutazione

Refertazione scorretta

✗ p53: positività diffusa (senza spiegazioni)

Regole d'oro

1. **Evita ambiguità:** Non scrivere solo "positiva" o "negativa". Specifica il **pattern osservato**
2. **Contesto istologico:** Indica in quali popolazioni cellulari è presente la positività
3. **Controlli interni:** Segnala se i controlli interni sono presenti e validi

✓ Esempi di frasi ben formulate

- "p53: pattern wild-type con espressione eterogenea nelle cellule neoplastiche; presenti controlli interni positivi (cellule basali)"
- "p53: pattern null con assenza completa di espressione nelle cellule neoplastiche, con positività nei controlli interni (stromali e linfociti)"
- "p53: overexpression diffusa e intensa nelle cellule neoplastiche (>90% nuclei), pattern suggestivo di mutazione TP53"

Frasi da evitare

- "*p53 positiva*": troppo generico
- "*p53 negativa*": può essere fuorviante senza specificare i controlli
- "*p53 compatibile con mutazione*": senza specificare pattern, è solo un'ipotesi azzardata

Conclusione: Una frase precisa, concisa e contestualizzata vale più di mille parole... ma deve essere scientificamente solida.

Capitolo 13 - AI e p53: il futuro è già qui

Lo stato dell'arte 2025

L'intelligenza artificiale sta rivoluzionando l'interpretazione della p53. Algoritmi CNN (Convolutional Neural Networks) possono predire la positività p53 direttamente dai vetrini H&E con accuratezza >90%

Applicazioni già operative

1. Scoring automatizzato

- **Visiopharm**: algoritmi certificati IVDR per scoring p53
- **OWKIN RiapsRisk™**: strumento AI per stratificazione prognostica
- **Ventana Companion Algorithm**: approvato FDA per assessment p53 in carcinomi mammari

2. Predizione da H&E

Studi recenti dimostrano che l'AI può predire il pattern p53 IIC direttamente dall'H&E, particolarmente utile in coliti croniche e neoplasie associate

3. Drug discovery

L'AI ha identificato nuovi composti per riattivare mutanti specifici di p53 (es. Y220C), aprendo prospettive terapeutiche innovative

Vantaggi e limitazioni

Vantaggi

- **Standardizzazione**: riduce la variabilità inter-osservatore
- **Efficienza**: analisi rapida di grandi volumi
- **Oggettività**: criteri riproducibili

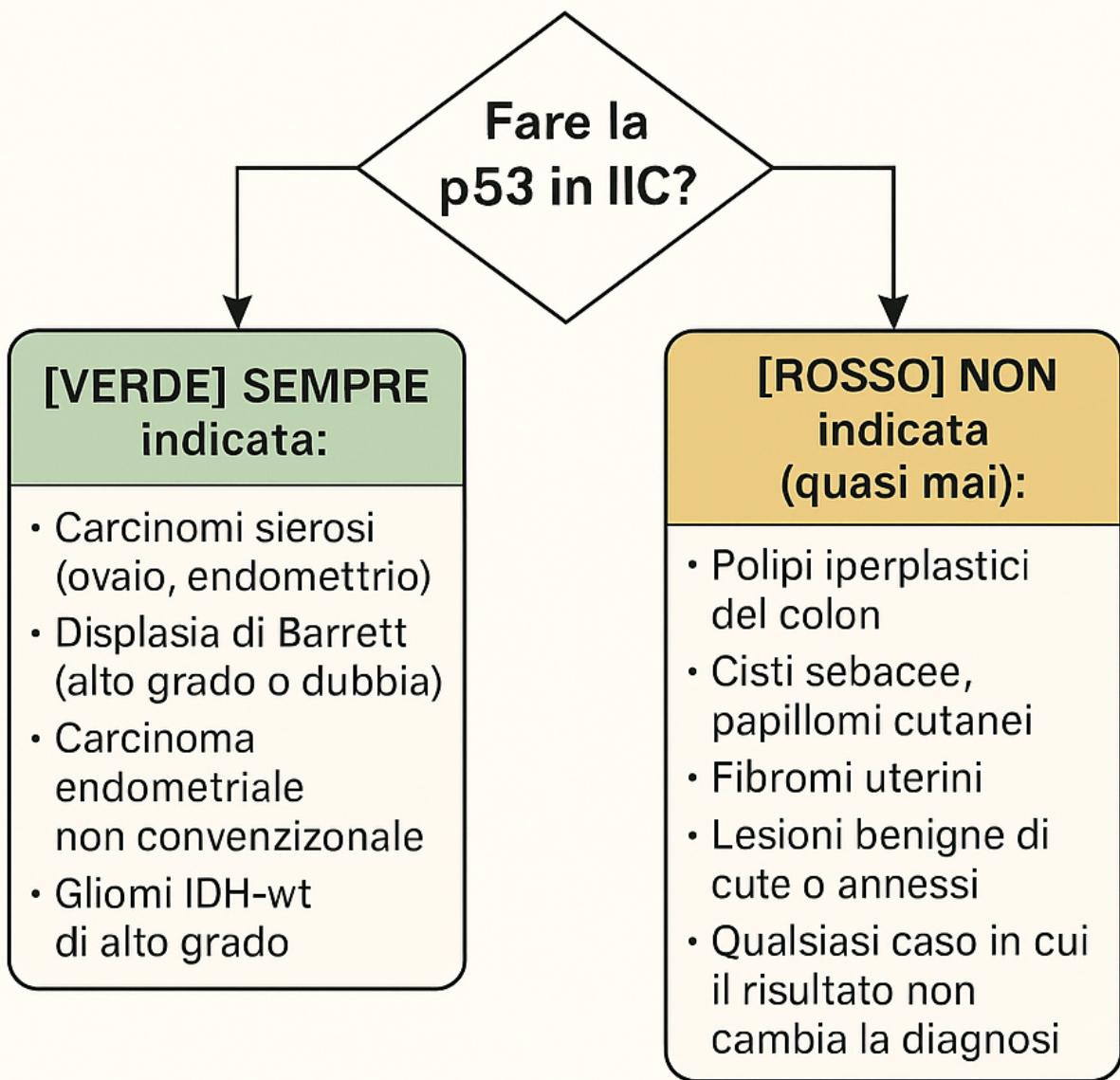
Limitazioni attuali

- Necessita training su datasets molto ampi
- Costo di implementazione elevato
- Validazione clinica ancora in corso

Il futuro prossimo

L'integrazione di AI con dati molecolari e radiomici promette stratificazioni prognostiche più precise, particolarmente in oncologia di precisione.

Quando fare la p53 (e quando lasciarla in pace)



Caso 1: La displasia gastrica dubbia

Scenario: Biopsia gastrica, architettura alterata, atipia citologica moderata
IIC p53: Pattern wild-type (15% positività eterogenea)
Interpretazione: Displasia di basso grado
Lezione: La p53 wild-type non esclude displasia, ma suggerisce basso grado

Caso 2: Il carcinoma sieroso dell'ovaio

Scenario: Massa annessiale, istologia sierosa
IIC p53: Overexpression diffusa (>95% nuclei, forte intensità)
Interpretazione: Pattern altamente suggestivo di mutazione TP53
Lezione: Nel sieroso ovarico, la p53 overexpressed è quasi patognomonica

Caso 3: Il tranello della flogosi

Scenario: Endometrio post-menopausa con flogosi cronica
IIC p53: Pattern "overexpressed" (80% positività)
Controlli: Intensità variabile, contesto infiammatorio
Interpretazione: Falso positivo da stress cellulare
Lezione: Il contesto istologico è sempre fondamentale

Caso 4: Il null-type senza controlli

Scenario: Biopsia mammaria, tutto negativo per p53
Controlli: Assenti (no epitelio normale, no linfociti)
Interpretazione: IIC non valutabile
Lezione: Mai interpretare un null senza controlli interni validi

Capitolo 15 - Bibliografia essenziale commentata

Review fondamentali

1. **Kastenhuber ER, Lowe SW.** *Putting p53 in Context.* Cell 2017;170:1062-1078.
 - LA review di riferimento sui meccanismi molecolari
2. **Köbel M, et al.** *Interpretation of P53 Immunohistochemistry in Endometrial Carcinomas.* Modern Pathology 2019;32:1431-1441.
 - Linee guida pratiche per l'endometrio

Studi clinici chiave aggiornati 2024-2025

3. **Vermij L, et al.** *p53 immunohistochemistry in endometrial cancer: clinical and molecular correlates in the PORTEC-3 trial.* Mod Pathol 2022;35:1475-1483.
 - Correlazione IIC/molecolare in 408 casi di carcinoma endometriale
4. **Osakabe M, et al.** *The pattern-based interpretation of p53 immunohistochemical expression as a surrogate marker for TP53 mutations in colorectal cancer.* Virchows Arch 2025;486:333-341.
 - Validazione della concordanza IIC/NGS nel colon-retto (91.3%)
5. **Jia H, et al.** *p53 Immunohistochemistry staining patterns and prognosis significance in 212 cases of non-endometrioid endometrial cancer.* Pathol Res Pract 2024;263:155595.
 - Correlazioni prognostiche nei carcinomi endometriali non endometrioidi

Innovazioni tecnologiche

6. **Ma Y, et al.** *Artificial intelligence in diagnostic pathology.* Diagn Pathol 2023;18:109.
 - Panoramica completa delle applicazioni AI in anatomia patologica
7. **Kobayashi S, et al.** *Artificial Intelligence Program to Predict p53 Mutations in Ulcerative Colitis-Associated Cancer or Dysplasia.* Am J Pathol 2022;192:1121-1129.
 - Primo algoritmo AI per predizione p53 da vetrini H&E

Applicazioni cliniche specifiche

8. **de Haan LM, et al.** *Real-world routine diagnostic molecular analysis for TP53 mutational status is recommended over p53 immunohistochemistry in B-cell lymphomas.* Virchows Arch 2024;485:643-654.
 - Evidenze per preferire l'analisi molecolare nei linfomi B

Conclusioni finali

La p53 rimane uno dei marcatori più informativi in anatomia patologica, ma **solo se interpretata correttamente**. Questo manuale fornisce gli strumenti pratici per evitare gli errori più comuni e integrare l'immunoistochimica nel contesto clinico-patologico moderno.

Trends emergenti 2025

- **AI-assisted scoring:** standardizzazione e riduzione errori
- **Analisi molecolare integrata:** superamento dei limiti IIC
- **Medicina di precisione:** stratificazione terapeutica personalizzata

Regole auree per il futuro

1. **La p53 si interpreta, non si misura**
 2. **Il contesto clinico-patologico è sempre fondamentale**
 3. **L'AI è un alleato, non un sostituto del patologo**
 4. **In caso di dubbio, meglio un referto onesto che una diagnosi azzardata**
-

"Il patologo del 2025 è quello che sa usare tutti gli strumenti disponibili - dall'occhio esperto all'AI - mantenendo sempre il buon senso clinico come bussola"

- **Principio di sopravvivenza del patologo moderno**