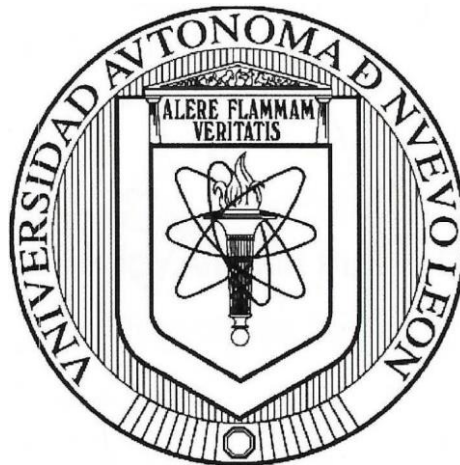


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN FACULTAD DE
MEDICINA Y HOSPITAL UNIVERSITARIO "DR. JOSÉ
ELEUTERIO GONZÁLEZ"

SUBDIRECCIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA



ESTUDIO DE LA EXPRESIÓN DE MOLÉCULAS ASOCIADAS A
LA TRANSICIÓN EPITELIAL-MESENQUIMAL (CADHERINA-E,
ACTINA DE MUSCULO LISO Y DESMINA) EN LAS ZONAS
CENTRAL Y PERIFÉRICA TUMORAL EN EL CARCINOMA
RENAL VARIEDAD DE CÉLULAS CLARAS.

TRABAJO DE TESIS PRESENTADO POR:
DR. DAVID DE JESÚS GARZA VILLARREAL

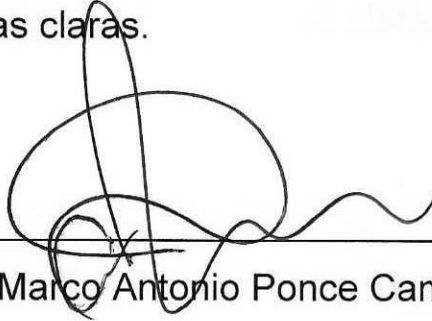
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA

MONTERREY, NUEVO LEÓN. FEBRERO DEL 2014

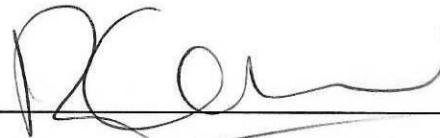
B)

APROBACIÓN DE TESIS

Estudio de la expresión de moléculas asociadas a la transición epitelial-mesenquimal (Cadherina-E, Actina de Musculo Liso y Desmina) en las zonas central y periférica tumoral en el carcinoma renal variedad de células claras.



Dr. med. Marco Antonio Ponce Camacho
Director de Tesis



Dra. Raquel Garza Guajardo
Coordinador de Enseñanza



Dr. med. Juan Pablo Flores Gutiérrez
Coordinador de Investigación



Dra. med. Oralia Barboza Quintana
Jefe de Servicio o Departamento



Dr. med. Gerardo Enrique Muñoz Maldonado
Subdirector de Estudios de Posgrado

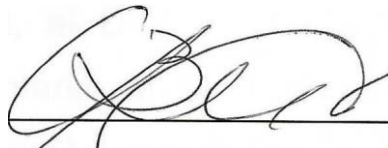
TITULO DE LA TESIS:

"Estudio de la expresión de moléculas asociadas a la transición epitelial-mesenquimal (Cadherina-E, Actina de Musculo Liso y Desmina) en las zonas central y periférica tumoral en el carcinoma renal variedad de células claras"

PRESENTADO POR:

Dr. David de Jesús Garza Villarreal

Este trabajo fue realizado en el Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León bajo la dirección del Dr. Med. Marco Antonio Ponce Camacho y la codirección de la Dra. Med. Raquel Garza Guajardo.



Dra. Oralia Barbaza Quintana

Jefe de Servicio de de Anatomía Patológica y Citopatología

MONTERREY, N.L., FEBRERO DEL 2014

AGRADECIMIENTOS

A las Oras. med. Oralia Barbaza Quintana y Raquel Garza Guajardo por siempre estar al pendiente de mí y brindarme sus conocimientos y el apoyo que llegue a necesitar en cualquier momento.

Muy especialmente al Dr. med. Marco Antonio Ponce Garnacha por asesorarme en mi tesis sin ningún interés particular, por apoyarme día a día en mi formación como anatomopatólogo y por compartir su tiempo y esfuerzo en todo momento.

A la Dra. Ivett C. Miranda Maldonado por ser una gran persona, excelente profesora y por brindarme su tiempo y comprensión para ayudarme a crecer profesionalmente

A todos mis profesores del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología que me brindaron las bases y los conocimientos de la Anatomía Patológica, al Dr. Luis Ángel Ceceñas Falcón, el Dr. Álvaro Barbosa Quintana, al Dr. Francisco Hernández Batres, la Dra. Gabriela Alarcón Galván, la Dra. Yuridia Alvarado Bernal, la Dra. Natalia Vilches Cisneros y la Dra. Gabriela Sofía Gómez Macías.

A todas las secretarias y al personal técnico de laboratorio y de anfiteatro por enseñarme y apoyarme en todo momento,

especialmente a los técnicos Manuel García, Javier Abundis, Rosy Villa e Hilda Mendoza así como a las químicas Esperanza Bautista y Wendy Garza.

A mis compañeros residentes que me acompañaron en mi formación académica, Arturo, Itzel, Sayuri, Vicky, Luis, Ligia, Américo, Aldo, Nanis, Laura, Karla, Faridi, Abelardo, Melissa, Eric, Luis Carlos, Rodolfo y Adriana por compartir risas, desvelos, anécdotas, esfuerzos, conocimientos y que sin su ayuda todo hubiera sido diferente.

A mi familia y amigos por apoyarme infinitamente todos los días y ser pacientes y comprensivos conmigo para poder realizarme como Patólogo.

TABLA DE CONTENIDO

TEMA	PÁGINA
APROBACIÓN DE TESIS	2
TITULO DE LA TESIS	3
AGRADECIMIENTOS	4
TABLA DE CONTENIDO	6
LISTA DE ABREVIATURAS DE USO COMÚN	8
I. RESUMEN	9
11. INTRODUCCIÓN	12
11.1 DEFINICIÓN DE TEM	13
11.11 GENERALIDADES DE LA TEM	13
11.111 CÉLULAS EPITELIALES	14
11.IV CÉLULAS MESENQUIMALES	15
11.V MODULACIÓN DE LA TEM	16
11.VI GENERALIDADES DEL CARCINOMA RENAL.	21
111. OBJETIVOS	26
111.1 OBJETIVO PRINCIPAL.	27
111.11 OBJETIVO SECUNDARIO	27
IV. JUSTIFICACIÓN.	28
V. HIPÓTESIS	30
VI. HIPÓTESIS NULA	32
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS	34
VII.I MATERIALES	35
VII.II CRITERIOS DE INCLUSIÓN	35
VII.III METODOLOGÍA.	36
VII.IV VALORACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LOS ANTICUERPOS	39

VIII.RESULTADOS	41
IX.ANÁLISIS ESTADÍSTICO	50
VIII. DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	53
VIII. BIBLIOGRAFÍA.	55

LISTA DE ABREVIATURAS DE USO COMÚN

TEM: Transición Epitelial - Mesenquimal
RHPNM: Reporte Histopatológico de Neoplasias Malignas CK:
Citoqueratina
AME: Antígeno de Membrana Epitelial
AML: Actina de Musculo Liso
TME: Transición Mesenquimal - Epitelial VSG:
Velocidad de Sedimentación Globular DHL:
Deshidrogenasa Láctica
AJCC: American Joint Comitee on Cancer
H&E: Hematoxilina y Eosina

I RESUMEN

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La transición epitelial-mesenquimal es un proceso biológico complejo que permite a una célula epitelial mediante cambios bioquímicos, genéticos y finalmente estructurales asumir un fenotipo mesenquimal (figura A) con la finalidad de adquirir propiedades móviles/contráctiles para así aumentar su capacidad de migración, invasión, estimular células productoras de matriz extracelular y en ocasiones adquirir resistencia a la apoptosis.

El proceso de transición epitelial mesenquimal puede ser sujeto a estudio de manera indirecta en una neoplasia determinada mediante el inmunomarcaje de moléculas de adhesión y marcadores mesenquimales tales como filamentos intermedios propios de células de origen estromal,

Para el estudio del proceso de TEM es necesario conocer la expresión de moléculas y marcadores celulares que nos ayuden a diferenciar una célula epitelial de una mesenquimal, además tener en cuenta que dentro de un mismo tumor las células pueden presentar heterogeneidad en cuanto a su inmunofenotipo y morfología.

JUSTIFICACIÓN: Debido a que la TEM tiene un papel muy importante en la progresión del cáncer, principalmente en la invasión temprana y el desarrollo de metástasis a distancia, actualmente está bien documentado en modelos animales y en algunas neoplasias de humanos, sin embargo ninguno demuestra el proceso de TEM en el carcinoma renal, por esto es indispensable estudiar a profundidad el mecanismo de este proceso.

Al hacer un estudio experimental podremos observar y enlistar las moléculas expresadas con mayor frecuencia en las células con morfología de TEM para

conocer cuáles son las proteínas que presentan mayor especificidad y sensibilidad del proceso.

El estudio de la TEM nos brindara respuestas sobre la regulación genética y por consiguiente proteica durante la carcinogénesis teniendo como impacto clínico a largo plazo la posible aparición de nuevas terapias blanco oncológicas que bloqueen este proceso de TEM evitando así la progresión tumoral y las metástasis.

HIPÓTESIS: Existe una relación inversa en la expresión de las moléculas involucradas en la TEM donde las células de la zona no periférica del carcinoma renal expresan Cadherina E y son negativas para Actina de Músculo Específico y Desmina. Por el contrario las células de la zona periférica pierden la expresión de Cadherina E, y presentan expresión de Desmina y Actina de Músculo Específico.

MATERIALES Y MÉTODOS: Realizamos un estudio retrospectivo, observacional, descriptivo y comparativo. Trabajamos con una muestra por accidente la cual tiene 50 casos de pacientes con diagnóstico de carcinoma renal variedad células claras, esta muestra fue seleccionada de la base de datos del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" en el periodo comprendido entre 1995 al 2012. Al realizar las pruebas estadísticas de X² observamos correlación significativa al comparar ambas zonas tumorales en los 3 marcadores estudios.

CONCLUSIONES: conforme a lo reportado con la literatura, el proceso de TEM está relacionado con la progresión tumoral y las metástasis, sin embargo se requiere de muchos más estudios para poder caracterizar específicamente las moléculas implicadas en el carcinoma renal variedad de células claras con la finalidad de en un futuro poder realizar bloqueadores moleculares para evitar la progresión y con ello las metástasis.

II. INTRODUCCIÓN

II.I DEFINICIÓN DE TRANSICIÓN EPITELIAL-MESENQUIMAL

La transición epitelial-mesenquimal es un proceso biológico complejo que permite a una célula epitelial mediante cambios bioquímicos, genéticos y finalmente estructurales asumir un fenotipo mesenquimal (figura A) con la finalidad de adquirir propiedades móviles/contráctiles para así aumentar su capacidad de migración, invasión, estimular células productoras de matriz extracelular y en ocasiones adquirir resistencia a la apoptosis.¹

II.II GENERALIDADES DE LA TRANSICIÓN EPITELIAL MESENQUIMAL

En el periodo de organogénesis la totalidad de las células que conforman el cuerpo humano derivan de 3 capas germinales, el ectodermo, endodermo y el mesodermo². Partiendo de esta gran clasificación, al definir el origen de las neoplasias malignas, el principal parámetro que se utiliza para su adecuada clasificación es tener en cuenta la estirpe celular a partir del cual se originó la neoplasia.

Con base en lo anterior, las neoplasias de origen epitelial se denominadas carcinomas (originadas del ectodermo y endodermo), neoplasias de origen mesenquimal o mesodérmico (denominadas sarcomas), derivadas del tejido hematolinfoide (linfomas, mielomas).

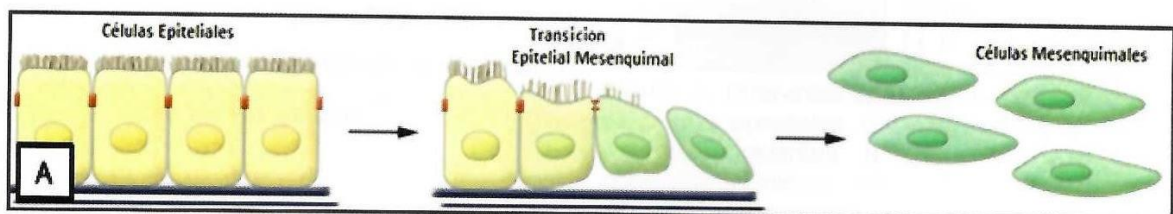


Figura A. Esquema de la TEM. En la figura de la derecha se muestran células epiteliales asentadas sobre la membrana basal, conservan las uniones intercelulares mediante la proteína cadherina E (representada con color rojo) y se aprecia que la polaridad del núcleo esta conservada; en la figura de en medio se puede ver como algunas células epiteliales presentan poca cohesividad la cual es mediada por la pérdida de las uniones intercelulares de cadherina E y pérdida de la polaridad. En la figura de la izquierda, las células epiteliales ya sobrepasaron la membrana basal y adquirieron un fenotipo mesenquimal además de motilidad, esta ultima característica no esta representada en este esquema⁽¹⁾.

II.III CÉLULAS EPITELIALES

Se define como célula epitelial las que forman el parénquima de un órgano y que por lo general recubren la superficie interna (capa mucosa), se encuentran dispuestas de una a varias capas y están unidas entre sí mediante proteínas de anclaje, en donde la cadherina epitelial (Cadherina-E) las mantiene fuertemente unidas y conservando una polaridad regular, toda esta capa celular está asentada en una membrana basal formada por glucoproteínas y proteínas globulares, principalmente colágeno, esta capa separa el compartimiento epitelial del estroma/ mesenquimar'.

La principal característica de las células epiteliales es la cohesión celular la cual es mediada gracias a las uniones intercelulares que pueden ser de 5 tipos (Figura B y C):

A) Uniones Estrechas: forman una barrera de permeabilidad impidiendo el libre flujo de sustancias entre una célula y otra?".

B) Uniones Ocluyentes o Uniones Oclusivas: son diminutos espacios que hay entre la membrana plasmática de cada una de las células^{4,5}.

C) Zonula Adherens o Unión Adherente: facilita la unión de las proteínas de los citoesqueletos de las células adyacentes^{4,5}.

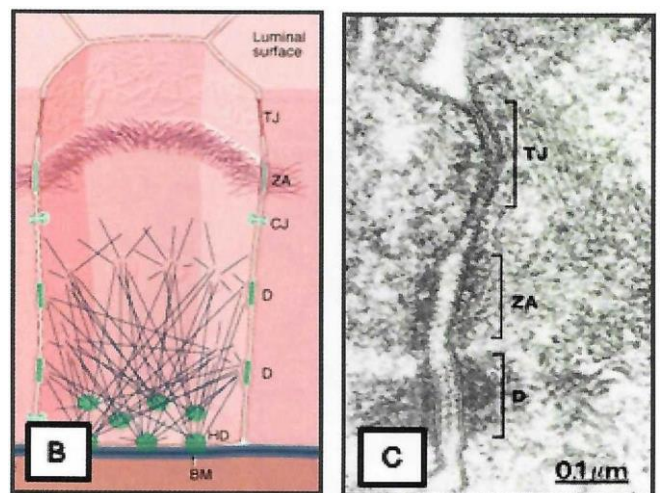


Figura B. Diferentes tipos de uniones celulares de las células epiteliales. CJ= Uniones Estrechas, TJ= Uniones Ocluyentes u oclusivas, ZA: Zonula Adherens o Uniones Adherentes, D: Desmosomas, HD= Hemidesmosomas, BM= Membrana Basal. ^{4}

Figura C. Microscopia Electrónica de Transmisión en donde se puede observar las uniones celulares en un epitelio ^{5}

D) Desmosomas: unen los citoesqueletos de filamentos intermedios de células adyacentes^{4,5}.

E) Hemidesmosomas: une las células epiteliales y la membrana basal".

II.IV CÉLULAS MESENQUIMALES

Las células mesenquimales son el primordio de las células estromales en el adulto, derivan del mesodermo y se caracterizan por formar parte del tejido estroma! que puede laxo o denso, dependiendo de la organización de sus proteínas y células, estas últimas suelen presentar aspecto fusiforme o estrellado y producen matriz extracelular principalmente fibras de colágeno, fibras elásticas, fibras de reticulina y proteoglucanos los cuales presentan proteínas contráctiles (actina, desmina) en su citoplasma⁴.

Las principales funciones del estroma son las de proporcionar soporte estructural a las células parenquimatosas, sirve como un medio de intercambio de sustancias químicas y electrolitos, depósito de grasa para proteger de traumatismos, elasticidad, además, recientes investigaciones muestran que las neoplasias malignas inducen a las células

mesenquimales a producir factores angiogénicos y enzimas proteolíticas de la matriz extracelular (como la colagenasa) para poder invadir el estroma y

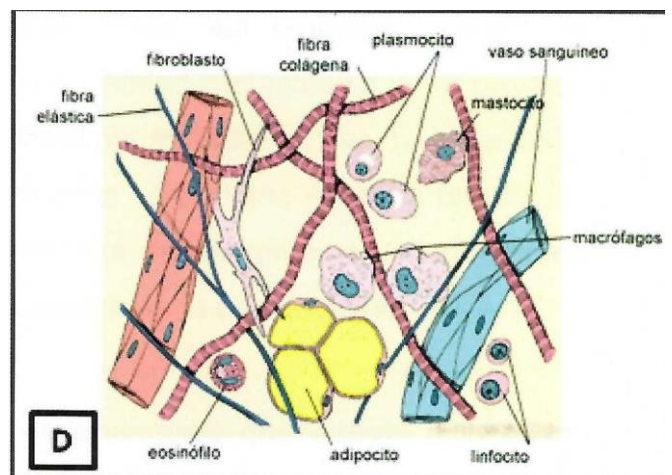


Figura C. Esquema que muestra la relación que existe entre las células y la matriz extracelular, en donde la una de las principales células es el fibroblasto. (5)

posteriormente introducirse a los vasos sanguíneos neoformados para producir metástasis a distancia⁶. Bajo circunstancias especiales pueden producir exceso de matriz, por ejemplo en la reparación de heridas y fibrosis del tejido⁷.

II.V MODULACIÓN DE LA TRANSICIÓN EPITELIAL-MESENQUIMAL

La TEM y la TME son procesos claves en el desarrollo humano y en las metástasis de células tumorales. Durante la TEM las células epiteliales pierden la polaridad de su membrana plasmática debido a la ruptura de sus uniones intercelulares y a la degradación de la membrana basal y de los componentes de la matriz extracelular con la finalidad de convertirse en células mesenquimales con motilidad.

Tanto los receptores de membrana, la matriz extracelular y los genes que contienen la información de las proteínas del citoesqueleto celular median la adhesión celular, la migración y la morfogénesis. Este proceso en condiciones normales, como en el periodo organogénico, está controlado por la activación y desactivación de vías moleculares específicas, sin embargo, durante la carcinogénesis y específicamente en la enfermedad metastásica, este proceso se lleva bajo ninguna supervización ni control, es por este motivo que el estudio de la TEM y de la TME nos brindaran muchas respuestas sobre la regulación genética y por consiguiente proteica, durante la carcinogénesis teniendo como impacto clínico la aparición de nuevas terapias blanco oncológicas.

El citoesqueleto es una especie de andamiaje que adapta a la célula para que esta pueda cumplir sus funciones específicas. Los principales factores que modulan la TEM son los siguientes:

- A) Activación de factores de transcripción (genes snail y slug)
- B) Cambios en las proteínas de la membrana celular
- C) Reordenamiento del citoesqueleto

D) Producción de enzimas proteolíticas de la matriz extracelular

E) Expresión de proteínas específicas mesenquimales ^{7,8,9}

Los factores antes descritos pueden ser utilizados como marcadores para estudiar este proceso demostrando el cambio de morfología de las células así como el reordenamiento del citoesqueleto por la pérdida de expresión o adquisición de la expresión de diversos tipos de proteínas estructurales.

Los marcadores que se expresan principalmente en las células epiteliales son cadherina-E, β catenina, citoqueratinas (CK), antígeno de membrana epitelial (AME), ocludina, claudina, desmoplakina. A diferencia, las células mesenquimales sintetizan colágeno y laminina y expresan vimentina, desmina, actina de musculo liso, fibronectina, twist, entre otros ^{10, 11}.

Hace algunos años, se pensaba que la expresión de estas moléculas era exclusiva de una estirpe celular, sin embargo, se ha encontrado que tanto las células epiteliales pueden expresar proteínas relacionadas con la estirpe mesenquimal y viceversa ^{10, 11}.

La principal vía molecular que es activada en la TEM es la vía Wnt que a su vez activa el complejo cadherina E - β catenina, esta vía molecular esta esquematizada en la figura E¹¹. Con el estudio de esta vía molecular, se precisó que este proceso de TEM se presenta (figura F) de manera normal en la embriogénesis y en la reparación de herida además de presentarse como parte del espectro de las neoplasias malignas, particularmente tomando gran importancia en las metástasis a distancia de los carcinomas ^{10, 12, 13}.

La plasticidad de las células para cambiar su fenotipo epitelial a mesenquimal se da gracias a la activación de varias vías moleculares que a su vez activan genes específicos para la posterior transcripción de proteínas del citoesqueleto ^{13, 14, 15, 16, 17}.

E)

Enfocándonos en este trabajo al proceso de TEM involucrado en la progresión del cáncer y metástasis describiremos los pasos que siguen las células para poder implantarse en otro sitio. La primera característica y la principal, es la pérdida de la cohesividad celular, esto es mediado por la pérdida de la expresión de la Cadherina E, posteriormente esta molécula viaja al núcleo y como ya se describió, se une a la β -catenina formando el complejo que activara la vía Wnt^{14, 15, 17}.

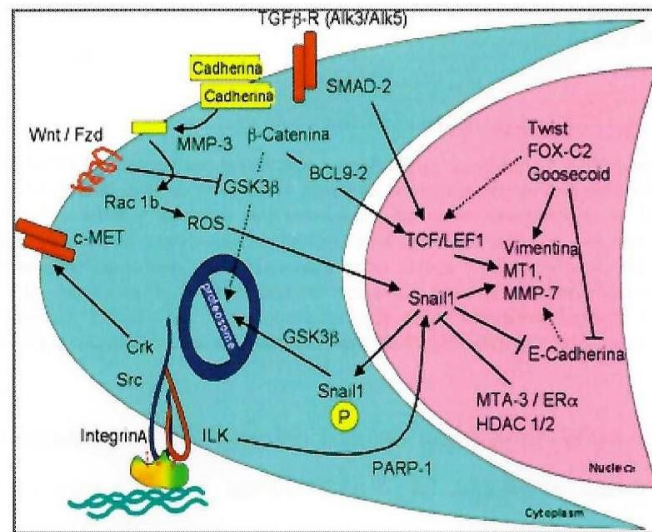


Figura E. Principales vías de señalización involucradas en la TEM. La pérdida de la Cadherina E de la membrana celular mediada por la Metalopeptidasa 3 (MMP-3) da lugar a que esta molécula viaje por el citoplasma para llegar al núcleo en donde activa al gen Snail 1 a través del protooncogen C-ROS-1. La fosforilación de Snail es mediada por el gen de la cinasa de glucógeno sintetasa (GSK-3), la desfosforilación de este gen está mediada por el complejo de desacetilación nuclear (NuRD) unido a los genes asociados a metástasis (MTA3) el cual a su vez inactiva el receptor de estrógenos. La inactivación de la cadherina E en el núcleo mediante los genes Snail 1 o Twist genera indirectamente la transcripción de proteínas mesenquimales como vimentina, ya que se activan los genes β catenina, FOX-C2 y SIP1 los cuales a su vez activan genes de proteínas mesenquimales como la actina y desmina. La traslocación de la β catenina requiere de la activación del bcl-9-2 el cual por sí solo puede inducir la TEM. Al silenciar la vía del WTN la GSK-3 estará activada fosforilando en exceso los genes antes descritos, por lo cual esta vía es muy importante en el desarrollo de la TEM sabiéndose que tanto el Factor de Necrosis Tumoral β , el gen C-MET y el complejo Tcf-Lef1 a través de la activación del gen Smad activan esta vía y producen la TEM. (22)

6)

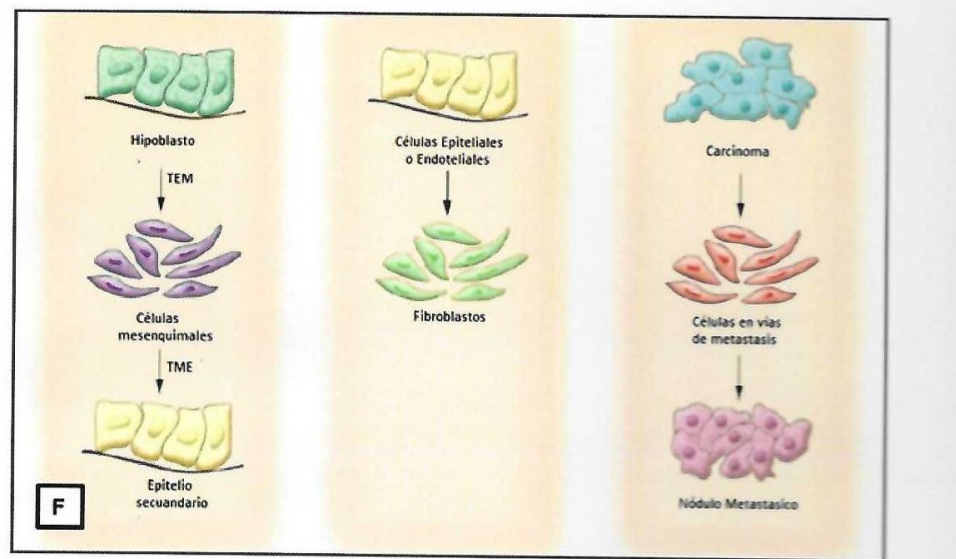


Figura F. Plasticidad de las células epiteliales. En esta figura se observan 3 diferentes procesos en los cuales esta involucrada la TEM. En el de la izquierda se observa el periodo embriológico en donde se manera normal se activa y desactiva esta vía para la posterior formación de los tejidos. En el centro observamos el proceso de cicatrización de heridas, aquí son importantes los factores quimiotácticos y los que median la inflamación aguda y crónica para poder activar y posteriormente desactivar las vías que median la TEM. En el lado izquierdo el proceso neoplásico muestra una capacidad para activar esta vía principalmente para inducir a las células productoras de matriz además de producir enzimas proteolíticas con el fin de llegar al interior de los vasos sanguíneos y posteriormente instalarse en un nuevo sitio. (20)

Morfológicamente se observan células separadas entre sí, pérdida de la polaridad y algunas células apoptóticas¹⁸. El siguiente paso importante es adquirir la expresión de enzimas proteolíticas de matriz extracelular con la finalidad de poder invadir más allá de la membrana basal por lo cual se empiezan a detectar principalmente la expresión de colagenasas y elastasas en el citoplasma de las células epiteliales^{6, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21}.

Una vez rota la membrana basal, las células cancerígenas deben fijarse e interactuar con la matriz extracelular y los angioblastos, estos procesos se dan gracias a factores de inducción que producen las células epiteliales modificadas, estos mismos factores además les proporcionan modificaciones en su material genético (activación de la vía del Wtn) con la finalidad de poder expresar moléculas mesenquimales (principalmente Actina y Desmina), estas 2

l)

proteínas contráctiles les brindan a las células la capacidad de emigrar hasta su objetivo dentro de los vasos sanguíneos (figura G)^{6, 11, 14, 15}.

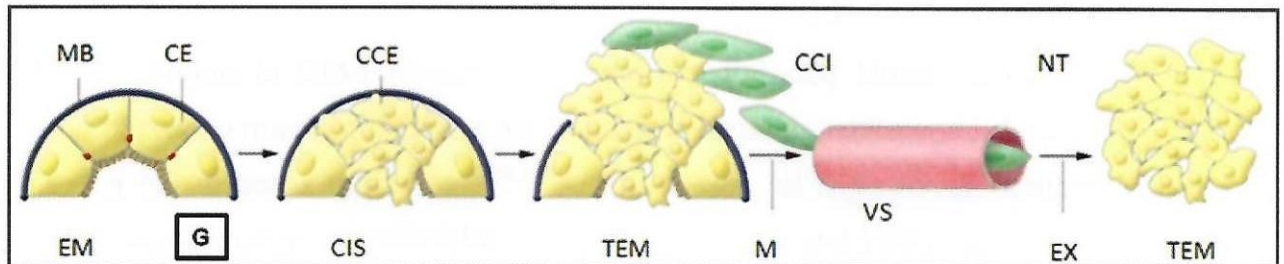


Figura G. Progresión del cáncer y metástasis. MB: Membrana basal, CE: Célula Epitelial, EM: Epitelio Maduro Normal, CCE: Célula Cancerígena Epitelial, CIS: Carcinoma In situ, TEM: Transición Epitelial Mesenquimal, CCI: Célula Cancerígena Invasora, M: Migración, VS: Vaso Sanguíneo, EX: Extravasación, NT: Nódulo Tumoral a Distancia.⁽¹¹⁾

En el ser humano el proceso de TEM ha sido estudiado en:

- carcinoma transicional papilar
- carcinosarcoma de útero
- adenocarcinoma ductal infiltrante de glándula mamaria
- carcinoma lobulillar infiltrante de la glándula mamaria
- carcinoma anal epidermoide
- carcinoma seroso y mucinoso de ovario
- carcinoma gástrico de tipo
- carcinoma embrionario y teratocarcinoma testicular
- carcinoma de células pequeñas de pulmón
- adenocarcinoma pulmonar
- tumor de Wilms
- adenocarcinoma de páncreas
- adenocarcinoma acinar de próstata
- carcinoma basocelular de la piel
- melanoma maligno de la piel
- carcinoma epidermoide dérmico
- carcinoma anaplásico de tiroides

4)

Sin embargo en el carcinoma renal no está descrito en la literatura ^{14,21,22,23}.

II.VI GENERALIDADES DEL CARCINOMA RENAL

Según la OMS (Figura H), Europa y Estados Unidos representan las regiones con mayor incidencia de carcinoma renal constituyendo del 2 al 3 % de todos los tumores malignos^{24,25,26,27}. En México, el registro histopatológico de neoplasias malignas (RHPNM) en su actualización del 2003 reporto que hasta el 30 % de los pacientes presentan metástasis al momento del diagnóstico y hasta un 20 % la desarrollara posteriormente y el promedio de edad de presentación es entre los 60 a 70 años con una relación hombre:mujer de 1.5: 1²⁸.

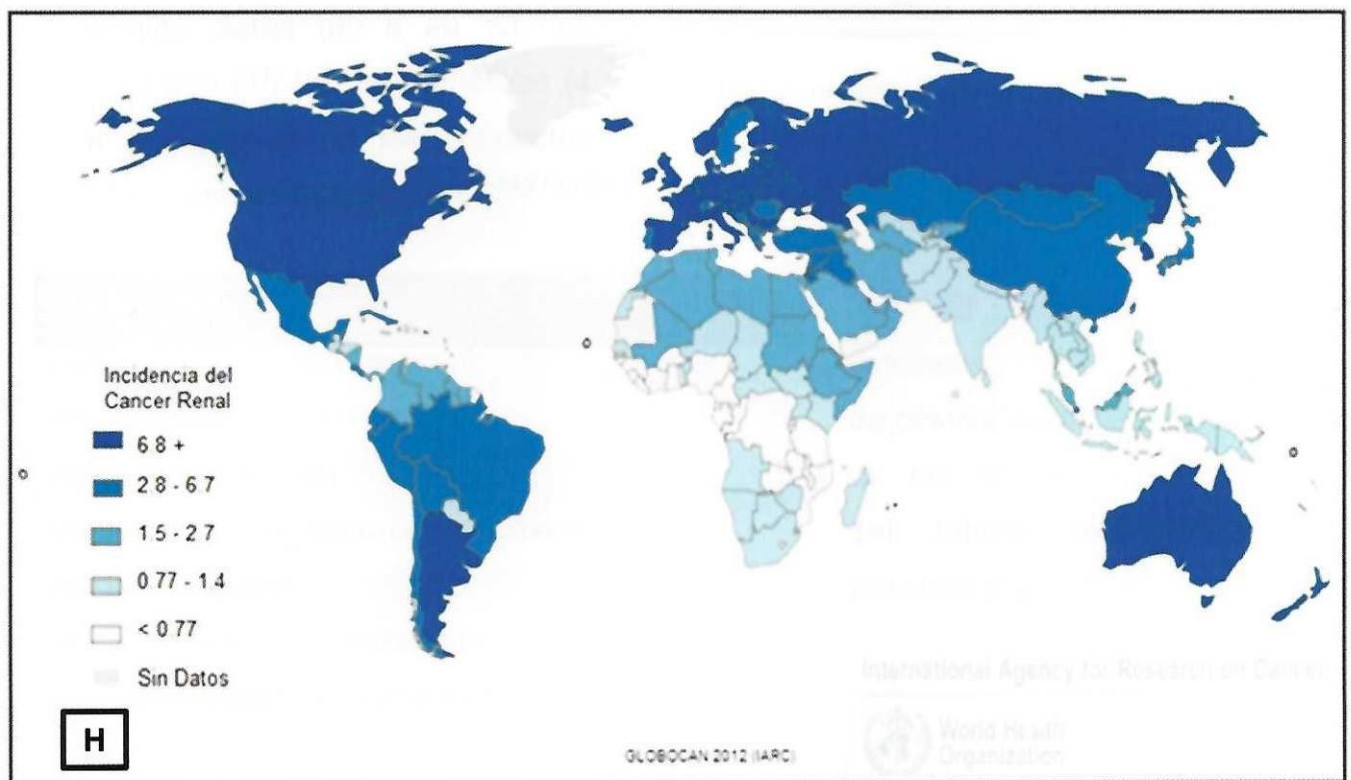


Figura H. Distribución mundial del cáncer renal. Según datos de la OMS Europa y Estados Unidos son las 2 regiones con mas incidencia en carcinoma renal, siendo la Republica Checa, Lituania, Eslovaquia, Estonia y Estados Unidos de América los países con mayor incidencia mundial llegando a presentar hasta 25 casos por cada 100,000 habitantes.^{26,27}

Dentro de los factores de riesgo se encuentra el tabaquismo, obesidad, uso de antihipertensivos y hasta el 4 % está relacionado con síndromes hereditarios, principalmente el síndrome de Von Hippel-Lindau y el síndrome de Birt-Hogg-Dubé^{29,30}.

Dentro de los tipos histológicos más frecuentes (figura J) corresponden a la variedad de células claras (80 a 90 %), los papilares (15 %), el cromóforo (4 a 5 %) y el de los conductos colectores de Bellini (1 %) ^{6, 24,27,29,30,31}.

<p>Cáncer renal</p> <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma renal papilar hereditario Esclerosis tuberosa 1 y 2 Hiperparatiroidismo y tumores mandibulares Leiomiomatosis hereditaria y cáncer de células renales Paraganglioma/feocromocitoma familiar Síndrome de Birt Hogg Dubé Síndrome de PTEN tumores hamartomatosos Síndrome de von Hippel Lindau Translocación constitucional del cromosoma 3 <p>Carcinomas uroteliales</p> <ul style="list-style-type: none"> Síndrome de Lynch <p>Cáncer renal infantil</p> <ul style="list-style-type: none"> Predisposición a tumores rabdoideas Síndrome de Beckwith Wiedemann Síndrome de Denys Drash Síndrome de Perlman Síndrome de Simpson Golabi Behmel Síndrome de Sotos Síndrome de WAGR Tumor de Wilms

Figura I. Síndromes asociados a Carcinoma Renal. ³⁰

TUMORES DE CÉLULAS RENALES. MODIFICADA DE LA CLASIFICACIÓN DE LOS TUMORES RENALES DEL 2004 DE LA OMS
CARCINOMA DE CÉLULAS CLARAS
CARCINOMA PAPILAR TIPO 1 Y 2
CARCINOMA CROMÓFOBO
CARCINOMA DE LOS CONDUCTOS COLECTORES DE BELLINI
CARCINOMA MEDULAR
CARCINOMA CON TRASLOCACIÓN Xp11
CARCINOMA ASOCIADO A NEUROBLASTOMA
CARCINOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES Y TUBULAR MUCINOSO
CARCINOMA DE CÉLULAS RENALES NO CLASIFICABLE
ADENOMA PAPILAR
ONCOCITOMA

Figura J. Clasificación del 2004 de la OMS de los tumores renales mostrándose solamente los derivados de las células renales. ²⁷

El origen del carcinoma renal variedad de células claras es a partir de las células epiteliales del túbulo contorneado proximal (figura K).³²

<p><i>Nefrona proximal</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma renal de células claras <p><i>Nefrona distal cortical</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma de células cromóforas (Oncocitoma)-Tumor benigno <p><i>Nefrona distal medular</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Carcinoma de Bellini Carcinoma medular renal
--

Figura K. Origen de los principales carcinomas renales, la variedad de células claras representa

En la actualidad cerca de 50% de los casos se diagnostican de forma incidental en los estudios de imagen según los estudios europeos. Los síntomas atribuibles al tumor son: hematuria, masa en flanco y dolor. Esta triada diagnóstica se puede presentar entre 6-10%.²⁴

En 30 % de los pacientes se presentan síndromes paraneoplásicos los cuales se caracterizan por presentar caquexia, pérdida de peso, hiperpirexia, neuromiopatía, hipertensión, varicocele, edema, dolor óseo, amiloidosis, VSG elevada, poliglobulia, anemia, función hepática anormal e hipercalcemia.^{15, 27}

Con los datos obtenidos previamente se establecen los factores pronóstico que se dividen en: anatómicos, histológicos, clínicos y moleculares (²⁴).

- Anatómicos: tamaño de tumor, invasión vascular, invasión a la capsula renal, afección suprarrenal, metástasis a ganglios linfáticos y metástasis a distancia.
- Histológicos: tipo histológico, grado de Fuhrman y patrón sarcomatoide.
- Clínicos: índices de Karnofsky, anemia, elevación de la DHL 1.5 veces el valor normal, calcio sérico corregido >1 O mg/dl.
- Moleculares: presencia de anhidrasa carbónica IX, Receptor del factor de crecimiento vascular endotelial, factor de crecimiento endotelial, factor de crecimiento derivados de plaquetas, factor inductor de hipoxia a, sin embargo, no hay estandarización para la determinación de estos factores.

Existen 2 sistemas de estadificación del carcinoma renal, la clasificación de Robson y la clasificación de la AJCC del 2010, esta última es la más utilizada y con la que están más familiarizados los urólogos y oncólogos (Figura L)³⁴. La supervivencia a cinco años según la etapa clínica es de 96% para estadio I, 82% para el estadio II, 64% para el estadio III y 10 a 23% en el estadio IV (enfermedad metastásica o estadio avanzado) (^{24, 30}).

L

TX	Tumor primario no evaluable.
T0	No hay indicios de tumor primario.
T1	Tumor de diámetro máximo \leq 7 cm limitado al riñón.
T1a	Tumor de diámetro máximo \leq 4 cm limitado al riñón.
T1b	Tumor de diámetro máximo $>$ 4 cm, pero \leq 7 cm limitado al riñón.
T2	Tumor de 7 - 10 cm de diámetro limitado al riñón.
T3	El tumor se extiende a venas importantes o tejidos perirrenales, pero no invade la glándula suprarrenal ipsilateral ni atraviesa la fascia de Gerota.
T3a	El tumor se extiende claramente al interior de la vena renal o de sus ramas segmentarias (que contienen músculo), o invade a la grasa perirrenal o al seno renal, pero no atraviesa la fascia de Gerota.
T3b	El tumor se extiende claramente al interior de la vena cava por debajo del diafragma.
T3c	El tumor se extiende claramente al interior de la vena cava o de su pared por encima del diafragma.
T4	El tumor atraviesa la fascia de Gerota (incluida la extensión por contigüidad a la glándula suprarrenal ipsilateral).

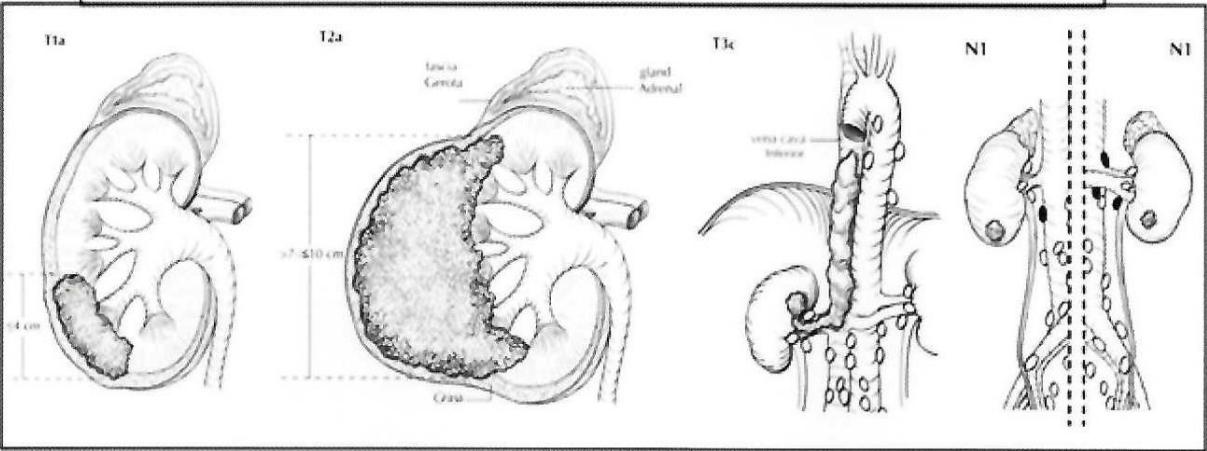


Figura L. Estadiaje del Carcinoma Renal según la clasificación de la AJCC del 2010. ³⁴

El Tratamiento en enfermedad localizada en la etapa clínica I es la resección conservadora mientras sea anatómicamente posible, de lo contrario se ofrecerá nefrectomía radical. En la etapa clínica 11 el tratamiento estándar continua siendo la nefrectomía radical aunque en casos especiales puede realizarse cirugía conservadora.^{24, 29}

La suprarrenalectomía se indica cuando existen factores de riesgo como son afección del polo superior, tumor mayor de 7 cm, trombo en la vena renal, sospecha de invasión clínicamente o por imagen. La linfadenectomía de rutina en pacientes sin sospecha clínica o por imagen de afección ganglionar no ha demostrado mejoría en la supervivencia por lo que se considera opcional y se

recomienda realizar solo en el tejido perihiliar (con fines de estadificación, se recomiendan al menos ocho ganglios)²⁴.

Recientemente se han publicado artículos acerca del uso de inhibidores del factor de necrosis tumoral β el cual como sabemos es el activador más potente de la **TEM**.^{35,36}

III. OBJETIVOS

III.I OBJETIVO PRINCIPAL

Conocer la expresión de moléculas asociadas a células epiteliales, específicamente Cadherina E, así como también moléculas relacionadas con células mesenquimales como la Actina de Músculo Liso y la Desmina en 2 regiones diferentes de un mismo tumor renal, las región periférica y la región central o no periférica del tumor renal variedad carcinoma de células claras.

Comparar la expresión de las 3 moléculas antes mencionadas en cada zona tumoral y realizar un análisis estadístico para saber si los resultados muestran un resultado con valor estadísticamente significativo.

III.II OBJETIVO SECUNDARIO

Realizar tablas de frecuencia y moda con los de datos obtenidos de los casos recopilados para el estudio.

IV. JUSTIFICACIÓN

IV. JUSTIFICACIÓN

Debido a que la TEM tiene un papel muy importante en la progresión del cáncer, principalmente en la invasión temprana y el desarrollo de metástasis a distancia, actualmente está bien documentado en modelos animales y en algunas neoplasias de humanos, sin embargo ninguno demuestra el proceso de

- TEM en el carcinoma renal, por esto es indispensable estudiar a profundidad el mecanismo de este proceso.

Al hacer un estudio experimental podremos observar y enlistar las moléculas expresadas con mayor frecuencia en las células con morfología de TEM para conocer cuáles son las proteínas que presentan mayor especificidad y sensibilidad del proceso.

El estudio de la TEM nos brindara respuestas sobre la regulación genética y por consiguiente proteica durante la carcinogénesis teniendo como impacto clínico a largo plazo la posible aparición de nuevas terapias blanco oncológicas que bloqueen este proceso de TEM evitando así la progresión tumoral y las metástasis.

V. HIPÓTESIS

V. HIPÓTESIS

Existe una relación inversa en la expresión de las moléculas involucradas en la TEM donde las células cancerígenas localizadas en la zona central (no periférica) del carcinoma renal expresan Cadherina E y no muestran expresión para Actina de Músculo Liso (AML) y Desmina.

Por el contrario las células cancerígenas de la zona periférica del carcinoma renal pierden la expresión de la Cadherina E y presentan expresión de Desmina y AML.

VI. HIPÓTESIS NULA

VI. HIPÓTESIS NULA

No existe diferencia en la expresión de las moléculas asociadas a la TEM en las zonas periférica y central (no periférica) del carcinoma renal.

Las células cancerígenas de la zona periférica muestran expresión de Cadherina E y no expresan Desmina ni AML.

Las células cancerígenas de la zona central (no periférica) no presentan expresión de Cadherina E y expresan AML y Desmina.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

VII.I MATERIALES

Realizamos un estudio retrospectivo, observacional, descriptivo y comparativo. Trabajamos con una muestra por accidente la cual tiene 50 casos de pacientes con diagnóstico de carcinoma renal variedad células claras, esta muestra fue seleccionada de la base de datos del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" en el periodo comprendido entre 1995 al 2012.

Posteriormente, junto con el director de tesis y la codirectora volvimos a revisar los casos y seleccionamos las áreas del tumor más representativas, de cada caso seleccionamos dos laminillas con sus respectivos bloques de parafina, un bloque contenía el tejido del tumor del área central (no periférica) y otro contenía el tejido tumoral que se encontraba adyacente al tejido renal no neoplásico. Para lo anterior nos guiamos con la relación de cortes del reporte anatomopatológico almacenado en el sistema computacional del servicio de Anatomía Patológica.

Definimos como **zona periférica tumoral** a cualquier región de la neoplasia que este inmediatamente adyacente al tejido renal residual no neoplásico; a diferencia la **zona no periférica o central tumoral**, corresponde a la región del tumor que no tiene relación con tejido renal residual no neoplásico (Figura M)

VII.II CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Inclusión:

- Pacientes adulto con diagnóstico de carcinoma de células claras de riñón diagnosticado en nefrectomías.
- Contar con las laminillas y bloques de parafina, estos últimos en condiciones óptimas para poder realizar tinciones especiales.

- Tumores con muestreo adecuado de ambas zonas y con 60% de células viables.

Exclusión:

- Pacientes pediátricos
- Tumor con extensas zonas de necrosis.
- Bloques en mal estado o material no disponible (Figura N).

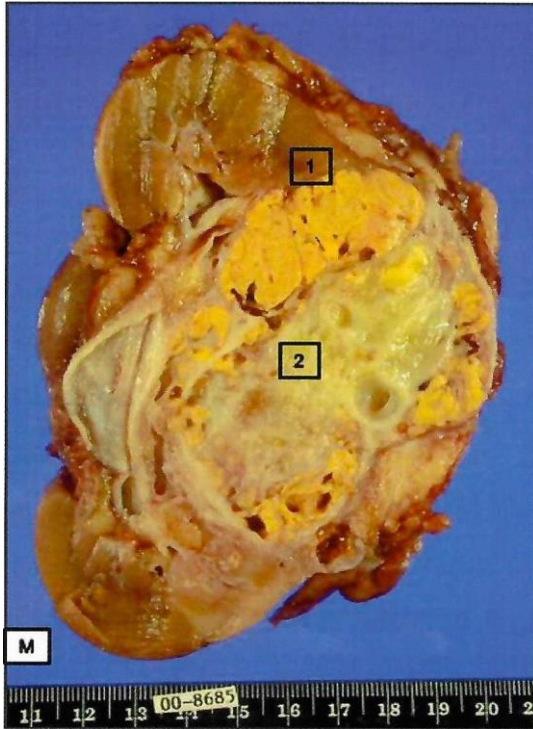


Figura M. Zonas Tumorales. 1: Zona Periférica. 2: Zona Central (No Periférica)

Figura N. Bloques de Parafina en mal estado

VII.III METODOLOGÍA

Para cada caso se tomamos dos sacabocados de cada zona, uno correspondiente a la zona periférica y otra de la zona no periférica del tumor de acuerdo a lo anteriormente definido y se

procedió a construir las matrices de tejido (Figura O).

El tejido obtenido se incluyó en bloques de parafina identificando en un mapa cada caso y a qué zona del tumor corresponde cada matriz.

Todo el tejido utilizado en el estudio fue procesado en el Hospital Universitario de la UANL con



Figura O. Micromatrices de tejido creadas.

los estándares ya preestablecidos por el laboratorio del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología:

- **Fijación de las Piezas:** tras la nefrectomía, se realizan cortes longitudinales al riñón tomando como referencia el hilio renal, posteriormente se fija por inmersión en formol neutro tamponado al 10 %, durante mínimo 6 horas. El Formol tamponado está compuesto por fosfato monosódico, monohidrato (4.00 g), Fosfato disódico, anhidro (6.50 g), Agua destilada (900.00 ml) y 100 ml de formol (CH₂O 40%).

- **Métodos de corte con micrótopo y tinción histológica:** las piezas fueron seccionadas en cortes verticales de 3 mm de espesor, que incluyeron toda la pieza. A continuación se procedió a la inclusión en parafina con un procesador de tejidos marca Leica®, que realiza la deshidratación de las secciones fijadas, mediante pases consecutivos en alcohol de concentraciones crecientes (70%, 96% y alcohol absoluto) y aclarado posterior en xilol (dimetilbenceno) dando dos pases de una hora cada uno. Finalmente se pasó a parafina líquida (punto de fusión 60° C) durante dos horas. Una vez realizados los bloques de parafina, se obtuvieron cortes seriados de 5 µm de espesor, mediante un micrótopo de la marca Leica®. Las secciones se desparafinizaron en xilol, se hidrataron en alcoholes de concentraciones decrecientes y se tiñeron con Hematoxilina-Eosina (H&E), siguiendo los métodos histológicos habituales. Las preparaciones de H&E recién teñidas se aclararon en agua destilada. Como método de montaje para todas las técnicas histológicas se utilizó la resina sintética Entellan Merck®.

- **Método inmunohistoquímico:** se utilizó el método inmunohistoquímico de Estreptavidina-Biotina-Peroxidasa para evaluar la expresión de las moléculas de manera cuantitativa y cualitativa. En la Técnica Estreptavidina-Biotina-Peroxidasa (EBP) se obtienen cortes de 5 µm de grosor del material

incluido en parafina y se colocan en portaobjetos tratados previamente con L-polilisina (Sigma, St Louis) durante 24 horas con el fin de adherir mejor el corte al portaobjetos. Las secciones se procesan con el método de Estreptavidina-Biotina-Peroxidasa (Complejo EBP), siguiendo el método general inmunohistoquímico, descrito por *Hsu et al.*, con las modificaciones habituales de nuestro laboratorio, que se especifican a continuación: se realiza la desparafinación completa de las secciones, seguido de la hidratación en alcoholes decrecientes hasta el agua destilada. A continuación se procede a la inhibición de la peroxidasa endógena de los tejidos mediante peróxido de hidrógeno al 3% a temperatura ambiente durante diez minutos. Los cortes se lavan en buffer fosfato (PBS) a temperatura ambiente, pH 7,4, durante 5 minutos. Se procede al desenmascaramiento del epitopo mediante tratamiento por calor; para ello, las preparaciones se introducen en buffer citrato a pH 7,6 y se realiza el tratamiento con microondas en dos pases de 2,5 minutos, procurando que las preparaciones no lleguen a hervir, y enfriando las mismas entre cada uno de los pases.

- Posteriormente, las preparaciones se dejan reposar durante 20 minutos a temperatura ambiente. A continuación se realiza un lavado rápido, dos minutos, en H₂O destilada para retirar el sobrenadante de buffer citrato. Lavamos las preparaciones en dos pases de 5 minutos en buffer PBS, pH 7,4. Seguidamente realizamos el bloqueo de las inmunoglobulinas inespecíficas de los tejidos con suero bovino normal durante 20 minutos a temperatura ambiente. Extraemos el sobrenadante del suero bovino, sin lavar nunca entre este paso y el siguiente. A continuación añadimos el anticuerpo primario anti-PCPH, diluido a 1 :2000, en una solución de PBS+ BSA al 1 %. El anticuerpo primario se incuba durante toda la noche a 4 ° C en cámara húmeda. Las secciones se lavan en tres pases de PBS, de 5 minutos cada uno, a temperatura ambiente. Se añade a las secciones, el complejo biotinilado anti-conejo, con una dilución 1 :200, durante 20 minutos a temperatura ambiente. A continuación se lavan las preparaciones en tres

M)

poner de PBS durante 5 minutos cada paso a temperatura ambiente. Incubación: incuban las

preparaciones con los anticuerpos (Zymet, Ca) durante 3S durante

5 días.

diagnostico. Se reveló con

hacer. Se reveló nuclear con

de la resina sintética DePex. Se utiliza a es positivos para los diferentes anticuerpos a estudiar y se tomaran secciones de piel normal como grupo de contro de este estudio. Las especificaciones de los estándares utilizados en nuestro laboratorio de muestran en la tabla 1.

Anticuerpo	Clon	Casa	Dilución
Cadherina E	PG-M1	DAKO	1: 250
AML	TIA-1	BIOCARE MEDICAL	1: 300
Desmina	123C3.D5	DBS	1: 25

TABLA 1. Especificaciones de los anticuerpos utilizados.

V. VALORACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE LOS

De manera normal, la expresión de la cadherina E es membranosa en las células epiteliales y negativa en las células mesenquimales, la actina y la desmina son expresadas de manera normal en las células mesenquimales en el citoplasma y en forma de filamentos intermedios.

Dado que nuestros casos son carcinomas esperamos encontrar una positividad para cadherina E y una negatividad para AML y Desmina.

- Cadherina E:

- o Normal: expresión membranosa en células carcinomatosas
- o Negativa: ausencia de tinción
- o Positiva Difusa: más del 50 % de las células neoplásicas con patrón membranoso.
- o Positiva Focal: menos del 50 % de las células neoplásicas con patrón membranoso.

- Desmina y AML:

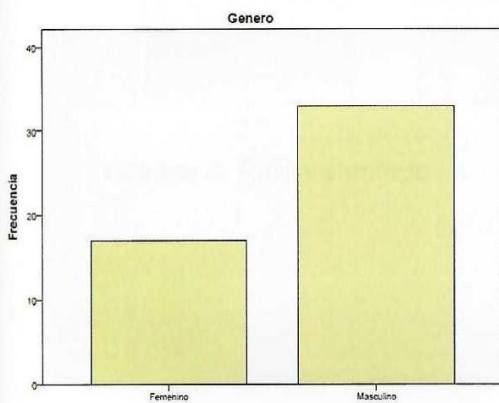
- o Normal: negativa en las células carcinomatosas y positiva en las células de la media de los vasos sanguíneos
- o Negativa: ausencia de tinción en las células neoplásicas o en menos del 1 %
- o Positiva Focal: al menos del 2 al 5 % de las células neoplásicas con tinción de patrón citoplásmico.
- o Positivo Difuso: más del 6 % de las células neoplásicas.

Para realizar la valoración de la intensidad de la tinción se utilizó un sistema de cruces en donde 1 cruz(+) es débil y 2 cruces (++) es intenso.

VIII.RESULTADOS

VIII. RESULTADOS

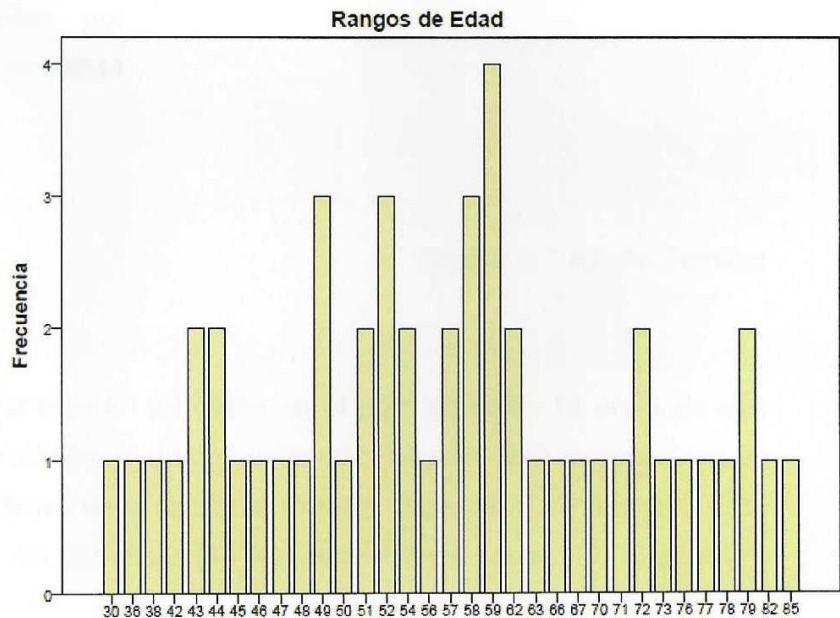
En un periodo de 17 años (1995 al 2012) se encontraron 325 casos de pacientes con diagnóstico de Carcinoma Renal. Tomando en cuenta los criterios de inclusión y exclusión previamente establecidos se realizó una "muestra por accidente" seleccionándose aleatoriamente 50 casos.



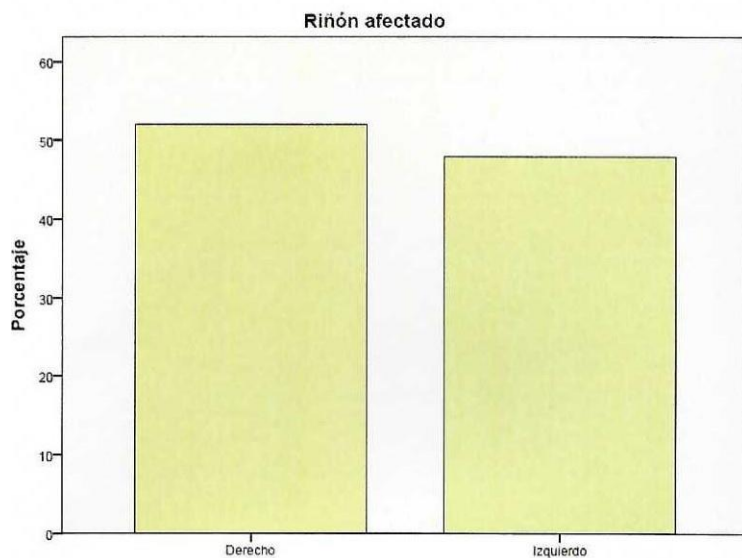
Obtuvimos 17 casos de pacientes femeninos y 33 de pacientes masculinos.

Grafica 1. Genero

Los rangos de edad obtenidos se muestran en la grafica 2. El paciente menor presento 30 años, el mayor fue de 85 años y la media fue de 58 años.



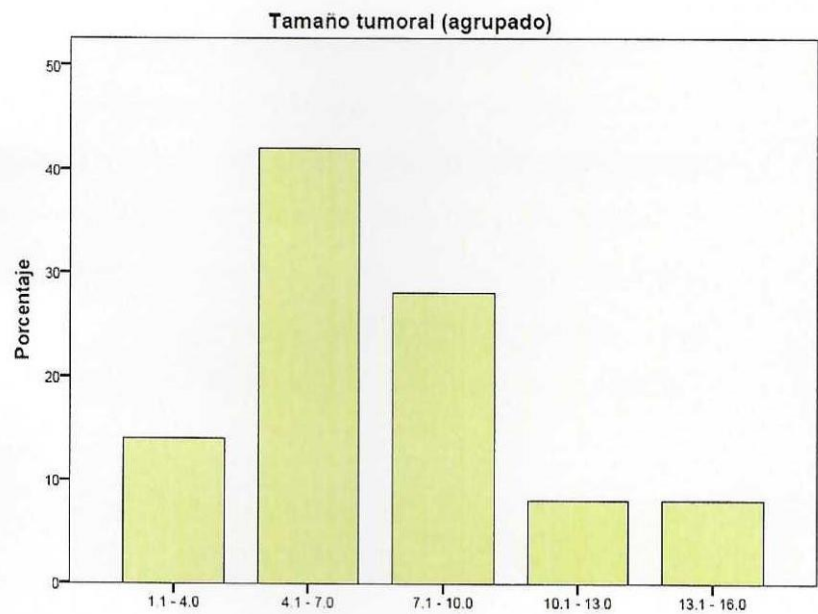
Grafica 2. Rango de Edades



El riñón derecho se encontraba afectado en 26 casos y el izquierdo en 24 casos.

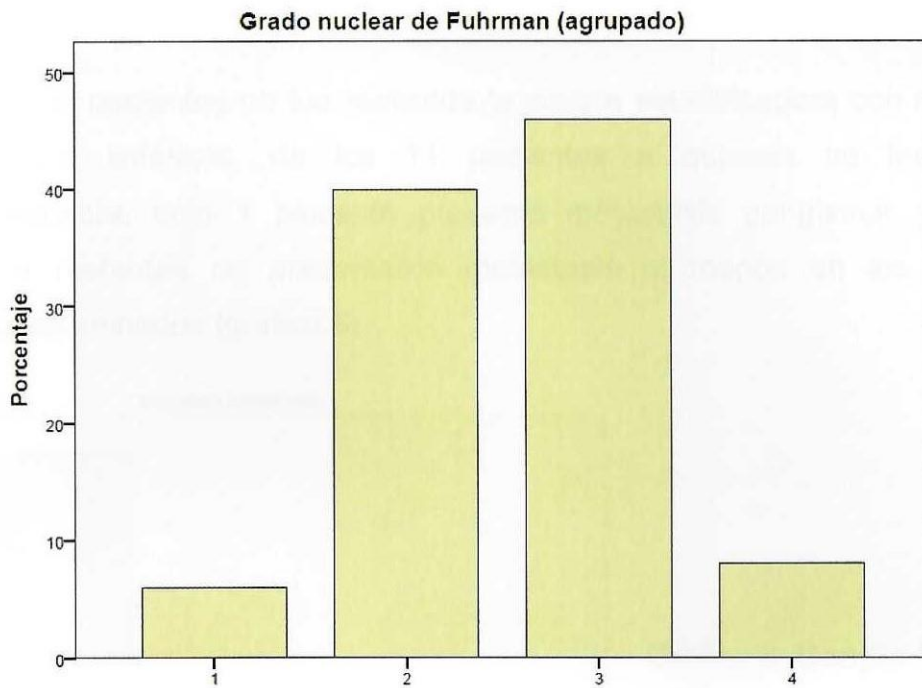
Grafica 3. Riñón afectado

El tamaño tumoral se encontró entre 1.8 – 15 cm de diámetro mayor. Los grupos de pacientes por tamaño tumoral se muestran en la grafica 4.



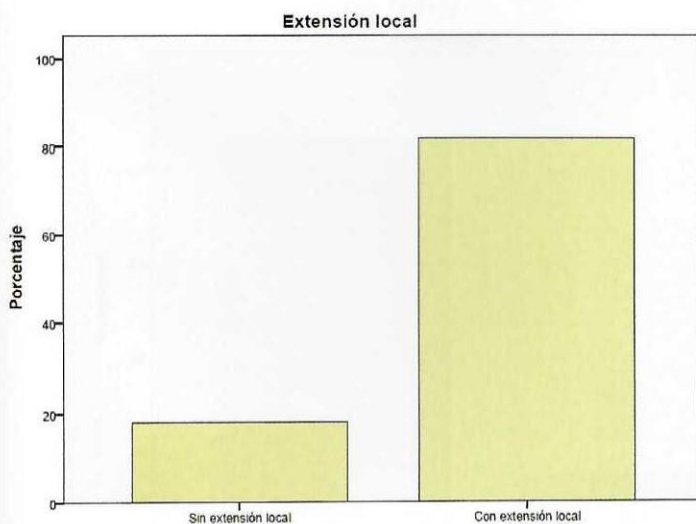
Grafica 4. Tamaño Tumoral

El tumor se localizó en 26 casos en el polo superior, 15 en la porción media y 8 en el polo inferior. El grado nuclear de Fuhrman está representado en la gráfica 5, se distribuyó de la siguiente manera: 3 casos (6 %) fueron G1, 20 casos (40 %) fueron G2, 22 casos (44 %) fueron G3 y 5 casos (10 %) eran G4, de estos últimos 5 casos en 4 de ellos se observó patrón sarcomatoide (80 %).

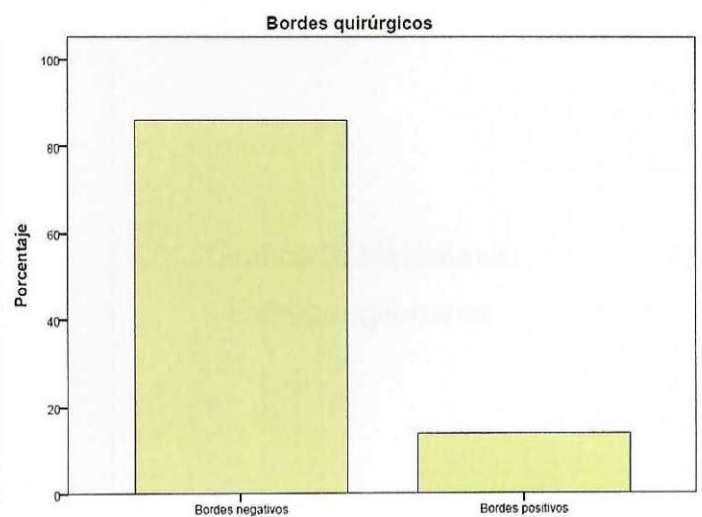


Grafica 5. Grado Nuclear de Fuhrman

La invasión a estructuras locales se representa en la grafica 6, en 9 casos no se presento extensión local y en 41 casos se observo extensión local a la capsula (39 casos), al seno renal (17 casos), al sistema pielocalicial (5 casos), a tejidos blandos perirrenales (5 casos) y 13 casos con invasión angiolímfática. Además, el borde de resección quirúrgico (grafica 7) se encontraba positivo para células neoplásicas en 5 casos (1 en la arteria renal, 1 en el uretero y 5 en la vena renal).

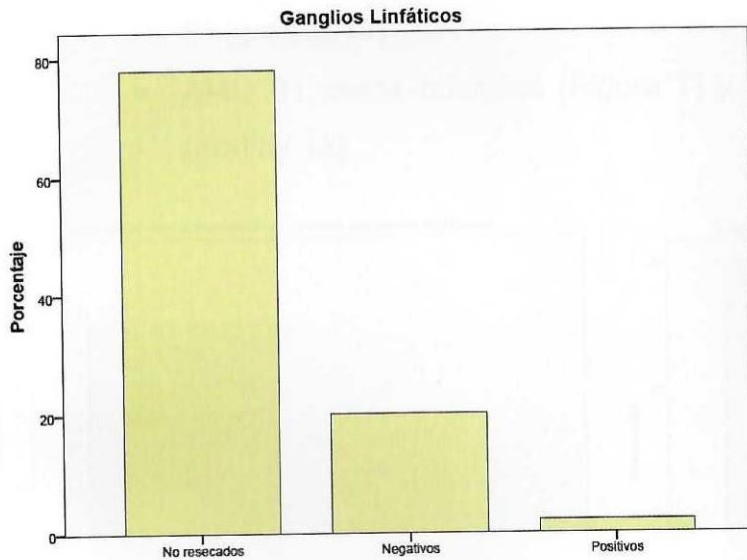


Grafica 6. Extensión Local



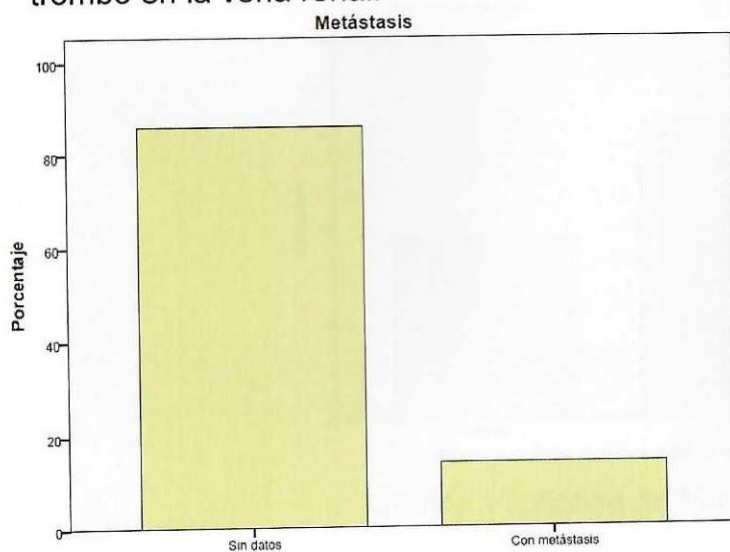
Grafica 7. Estado de los Bordes de Resección

En 39 pacientes no fue realizada la cirugía estadificadora con resección de ganglios linfáticos, de los 11 pacientes a quienes se les realizó linfadenectomía, solo 1 paciente presentó metástasis ganglionar y los 10 pacientes restantes no presentaron metástasis al menos en los ganglios linfáticos examinados (grafica 8)



Grafica 8. Ganglio Linfáticos

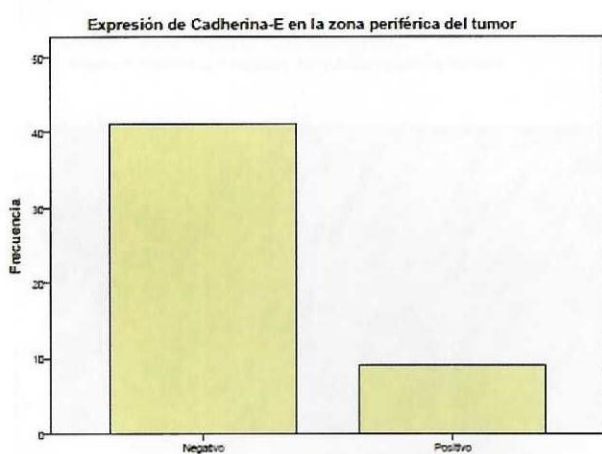
En 43 pacientes no se obtuvieron datos sobre las metástasis o fueron los ganglios linfáticos resecados fueron negativos, sin embargo en 7 se encontró metástasis (grafica 9), 1 paciente como ya se menciona presento a ganglios linfáticos, 5 paciente a la glándula suprarrenal ipsilateral, 1 paciente presento un trombo en la vena renal.



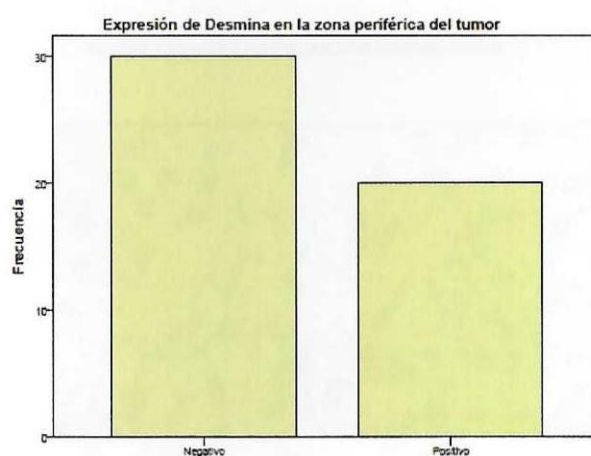
Grafica 9. Metástasis Extraganglionares

Los marcadores de inmunohistoquímica de los casos de la zona periférica tumoral resultaron de la siguiente manera:

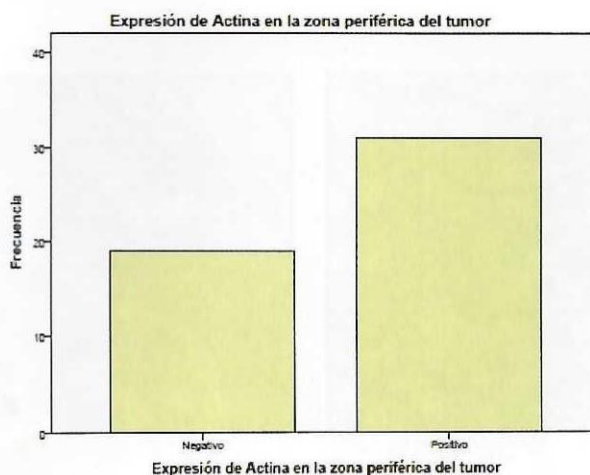
- Cadherina E: 41 casos negativos (Figura P) y 9 positivos (Figura Q) (grafica 10)
- Desmina: 20 casos positivos (Figura R) y 30 casos negativos (Figura S) (grafica 11)
- AML: 31 casos positivos (Figura T) y 19 casos negativos (Figura U) (grafica 12)



Grafica 10. Cadherina E en la zona periférica tumoral



Grafica 11. Desmina en la zona periférica tumoral



Grafica 11. Actina de Musculo Liso en la zona periférica tumoral

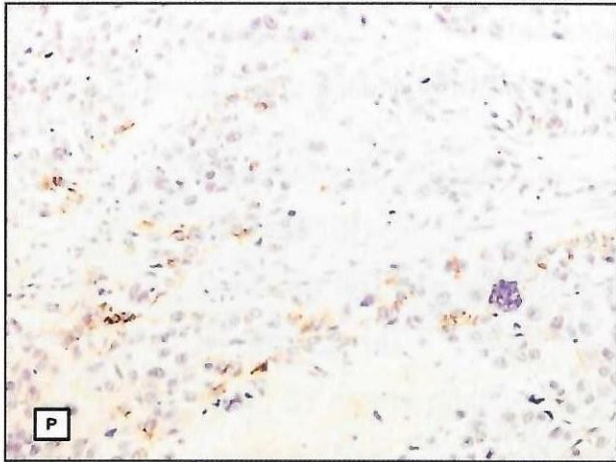


Figura P. Caderina E negativa en la Zona Periférica Tumoral

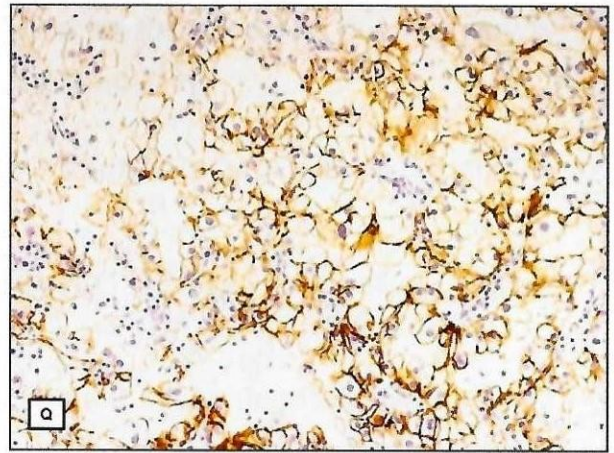


Figura Q. Caderina E positiva en la Zona Periférica Tumoral

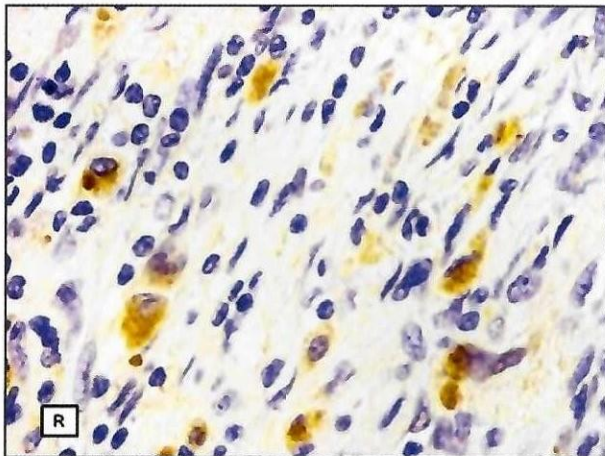


Figura R. Desmina positiva en la Zona Periférica Tumoral

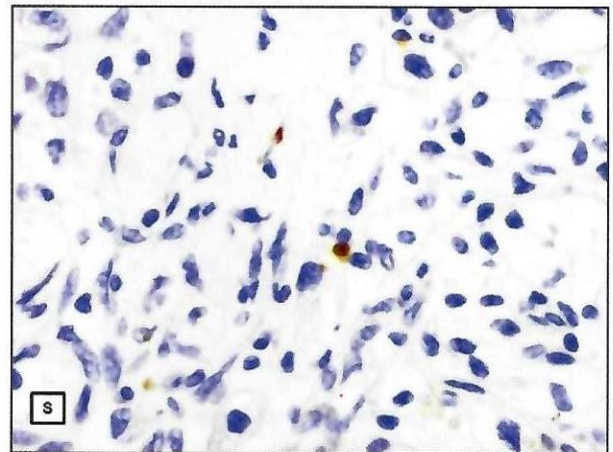


Figura S. Desmina negativa en la Zona Periférica Tumoral

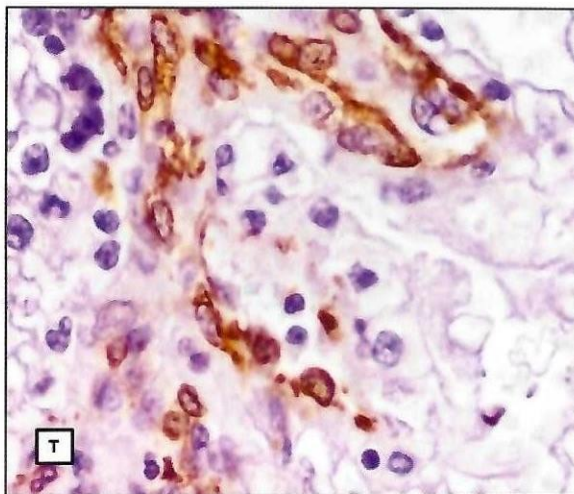


Figura T. AML positiva en la Zona Periférica Tumoral

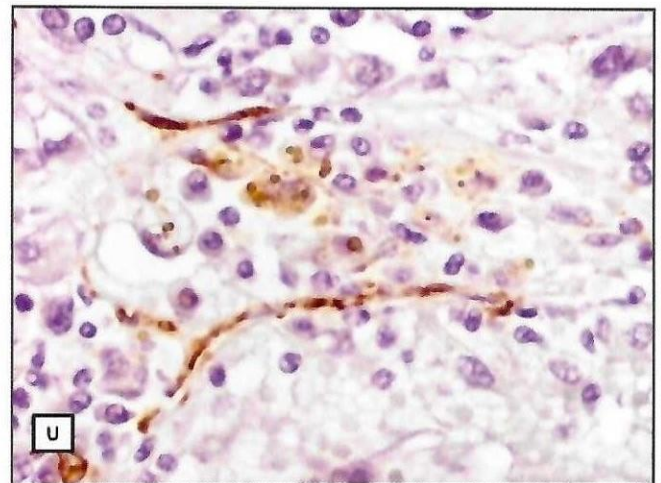
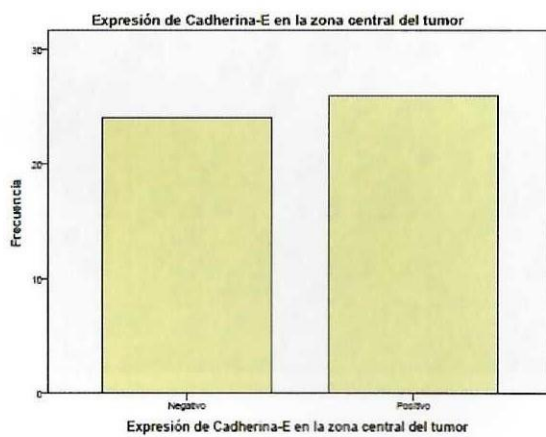


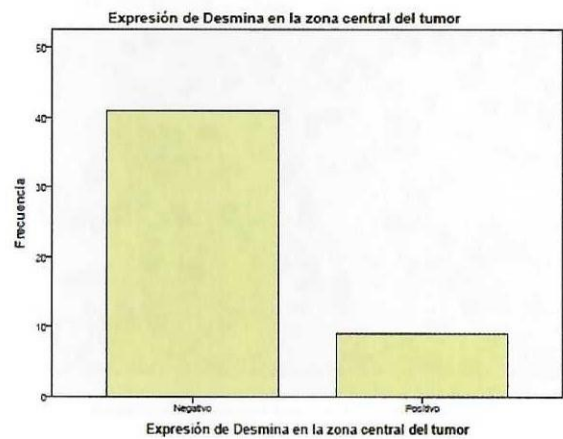
Figura U. AML negativa en la Zona Periférica Tumoral. Se observan gránulos de hemosiderina en algunas células neoplásicas además de células musculares de la media de los vasos sanguíneos.

Los marcadores de inmunohistoquímica de los casos de la zona central (no periférica) tumoral resultaron de la siguiente manera:

- Cadherina E: 26 casos negativos (Figura V) y 24 positivos (Figura W) (grafica 13)
- Desmina: 20 casos positivos (Figura X) y 30 casos negativos (Figura Y) (grafica 14)
- AML: 31 casos positivos (Figura Z) y 19 casos negativos (Figuras A')

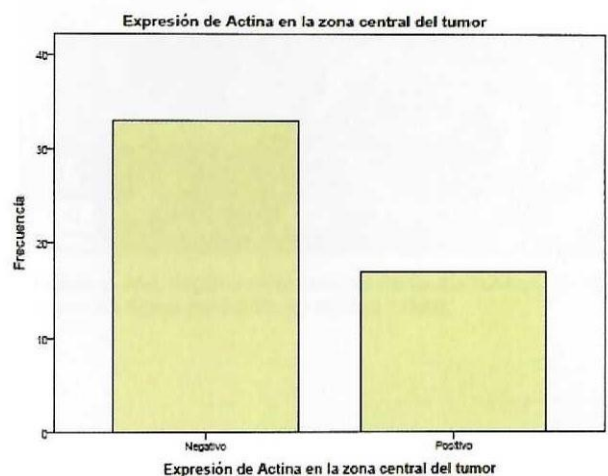


Grafica 13. Cadherina E en la zona no periférica tumoral



Grafica 14. Desmina en la zona no periférica tumoral

Grafica 15. Actina de Musculo Liso en la zona no periférica tumoral



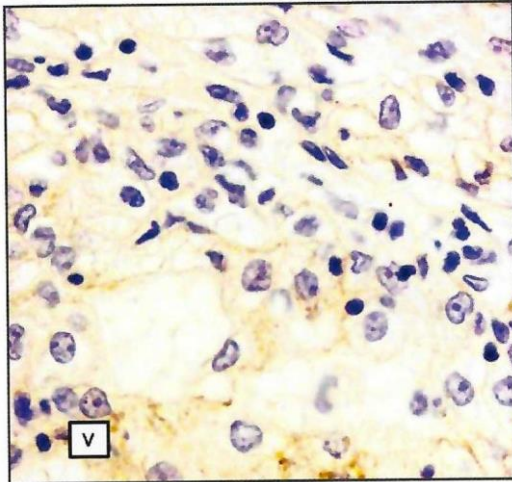


Figura v. Cadherina E negativa en la Zona No Periférica Tumoral

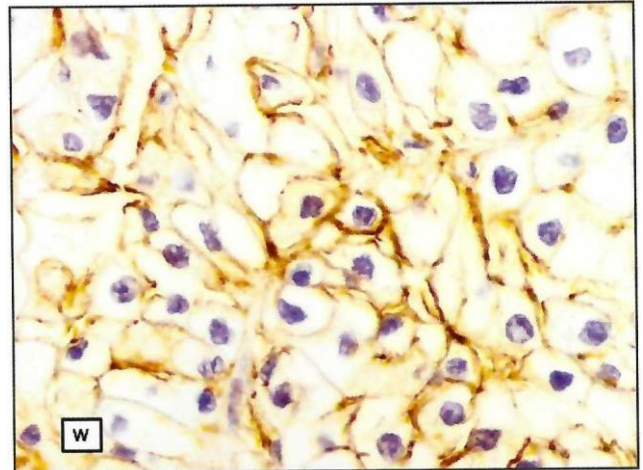


Figura W. Cadherina E positiva en la Zona No Periférica Tumoral

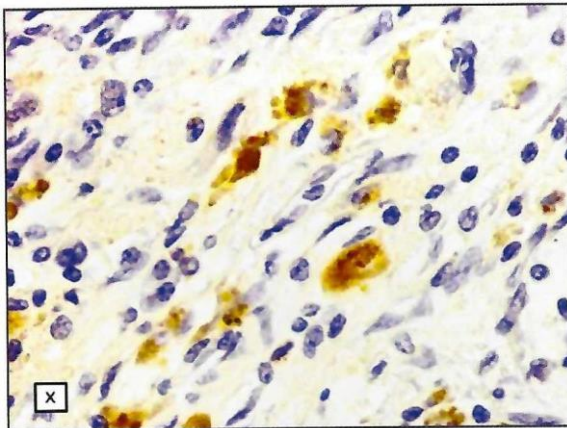


Figura X. oesmina positiva en la Zona No Periférica Tumoral

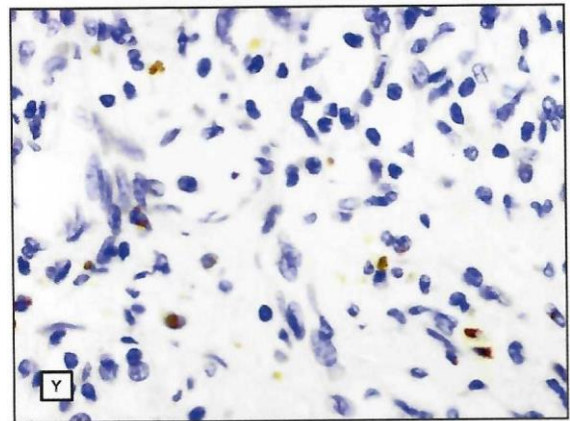


Figura Y Desllicla negativa en 13 Zona NO Periférica Tumoral

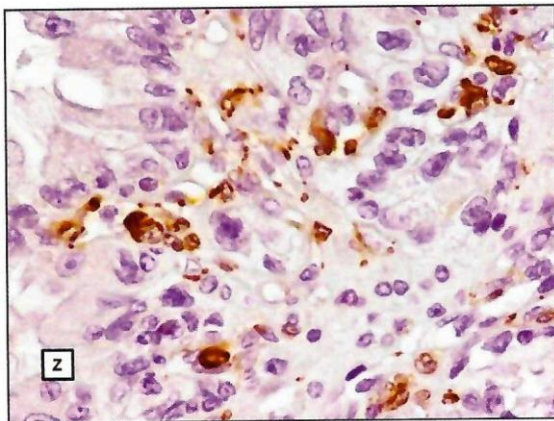


Figura Z. AML positiva en la Zona No Periférica Tumoral

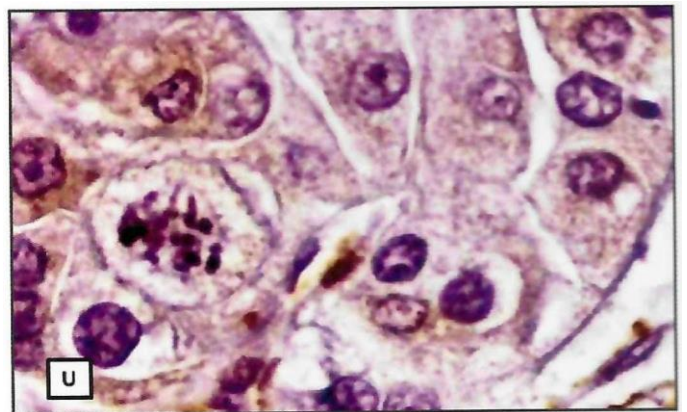


Figura U. AML negativa en la Zona No Periférica Tumoral. Se observa biotina endógena depositada en algunas células.

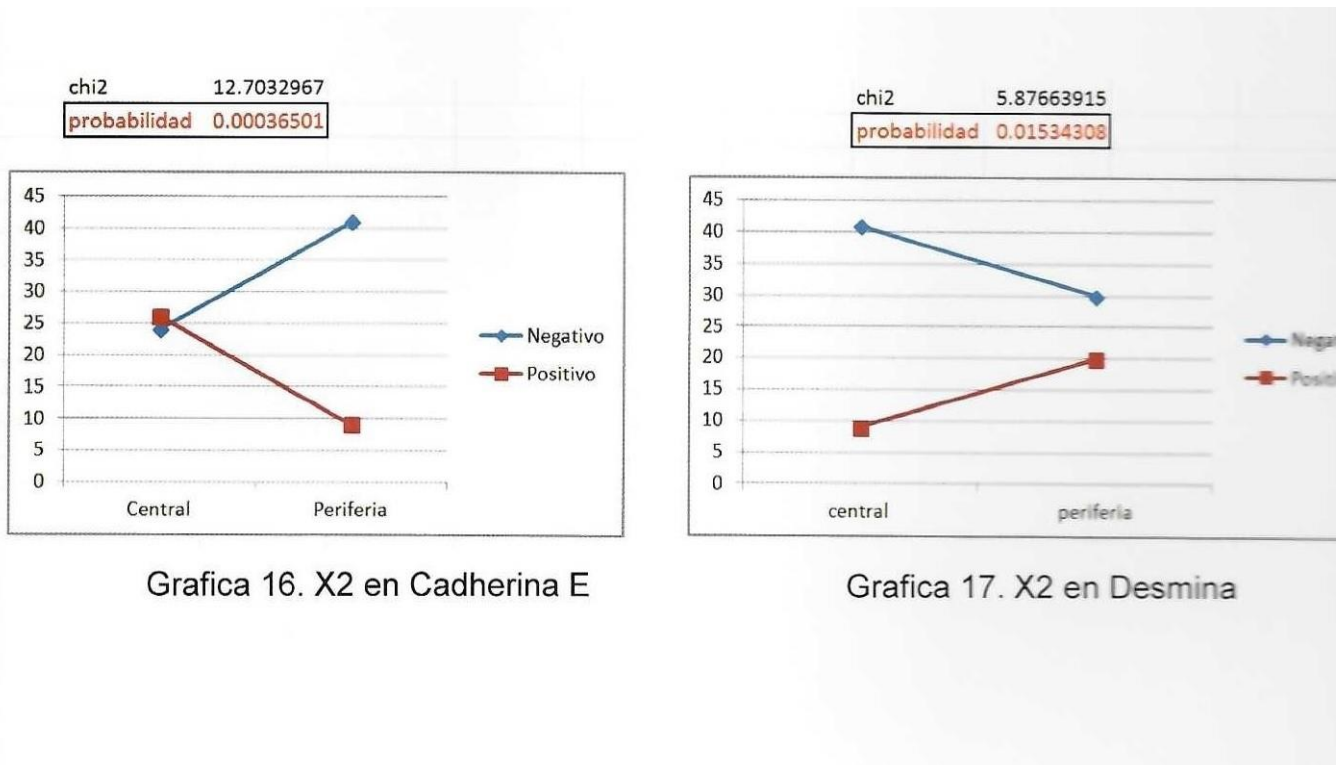
IX. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

IX. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

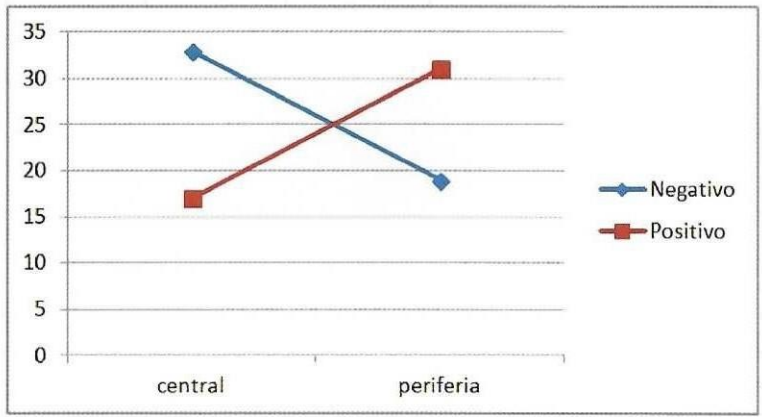
Nuestra muestra fue obtenida por accidente, realizamos un estudio retrospectivo, observacional y descriptivo. Se tabularon todos los datos en el programa estadístico SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versión 19. Utilizamos la prueba de X² para realizar las comparaciones entre la expresión de los marcadores de inmunohistoquímica en las zonas periféricas tumorales y no periféricas.

Los resultados de las pruebas estadísticas mostraron al comparar la expresión de cada marcador en cada zona tumoral los siguientes datos:

- Cadherina E: p de 0.00036501 (grafica 16)
- Desmina: p de 0.01534308 (grafica 17)
- Actina: p de 0.00507487 (grafica 18)



chi2 7.8525641
probabilidad 0.00507487



Grafica 18. X2 en AML

X. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

X. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Conforme a lo reportado por Gravdal et al, la pérdida de la expresión de la cadherina E fue menor en la periferia del tumor, sin embargo nuestro análisis estadístico cuando intentamos comparar la expresión de estos marcadores contra el tamaño tumoral y el grado nuclear no tuvo un valor que fuera estadísticamente significativo.

Kropp y Powell y sus respectivos colaboradores,^{36,37} pudimos observar que las células que presentan pérdida de la polaridad de celular adquieren la expresión de marcadores como la AML y Desmina, ellos mencionan además que esto ocasiona que allá contractibilidad de las células y presenten motilidad.

Lee et al menciona que la detección in vivo de la TEM en la progresión del cáncer en los organismos adultos en los últimos años tomara gran importancia con la finalidad de realizar múltiples bloqueadores de vías celulares con el fin de revertir o evitar este proceso.

El estudio de la TEM nos brindara respuestas sobre la regulación genética y por consiguiente proteica durante la carcinogénesis teniendo como impacto clínico a largo plazo la posible aparición de nuevas terapias blanco oncológicas que bloqueen este proceso de TEM evitando así la progresión tumoral y las metástasis.

BIBLIOGRAFÍA

1. Weinberg RA. *The basics of epithelial-mesenchymal transition. J Clin Invest.* 2009; 119: 1420-8
2. Moore, Persuad. *Embriología Clínica, 8º Edición, McGraw Hill Interamericana, 2004.*
3. Mills S. *Histology for pathologists. 3rd Ed. Lippincott Williams & Wilkins, New York 2007. 1233p*
4. Leslie Gartner. *Color Atlas and Text of Histology. /ISBN-10: 1451113439.*
5. *Junqueira's Basic Histology, Twelfth Edition. /ISSN 0891-2106*
6. Vinay Kumar, Abul K. Abbas, Neelson Fausto, Richard N. Mitchell, M.O. Ph.D. *España 2009, ISBN: 8480863323*
7. K. Miyazono. *Transforming growth factor- β signaling in epithelial-mesenchymal transition and progression of cancer. Proc. Jpn. Acad., Ser. B 85 2009.*
8. R. Kalluri. *EMT: When epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells. J. Clin. Invest.* 119:1417-1419 2009.
9. Nieto MA. *Epithelial-Mesenchymal Transitions in development and disease: old views and new perspectives. Int. J. Dev. Biol.* 53:1541-1547 (2009).
10. Zeisberg M. *Biomarkers for epithelial-mesenchymal transitions. J. Clin. Invest.* 119:1429-1437 (2009). doi:10.1172/JC/36183
11. Lee JM. *The epithelial-mesenchymal transition: new insights in signaling, development, and disease The Journal of Cell Biology, Vol. 172, No. 7, March 27, 2006 973-981.*

12. Thiery J P. *Epithelial-mesenchymal transitions in tumor progression.*
Nature reviews cancer 2002
13. Weinberg RA. *The basics of epithelial-mesenchymal transition.* *J Clin Invest.* 2009;119:1420-8.
14. Kokudo T. *Snail is required for TGF β -induced endothelial mesenchymal transition of embryonic stem cell derived endothelial cells.* *J Cell Sci.*
15. Miyazono K. *Transforming growth factor- β signaling in epithelial-mesenchymal transition and progression of cancer.* *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2009;85:314-23.
16. Medici D. *Snail and Slug Promote Epithelial-Mesenchymal Transition through β Catenin, T Cell Factor 4 dependent expression of transforming growth factor.* *Mol Biol Cell.* 2008;19:4875-87
17. Kalluri R. *When epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells.*
J Clin Invest. 2009;119:1417-9.
18. Martins VL. *Increased invasive behaviour in cutaneous squamous cell carcinoma with loss of basement-membrane type VII collagen.* *J Cell Sci.* 2009; 122: 1788-99.
19. Zavadil J. *The Epithelial-Mesenchymal Transition.* *Cancer Res* 2008;68:9574-9577.
20. Klymkowsky MW. *Mesenchymal Transition A Cancer Researcher's Conceptual Friend and Foe.* *AJP* 2009; 174, No. 5
21. Hoot K E. *Keratinocyte-specific Smad2 ablation results in increased epithelial-mesenchymal transition during skin cancer formation and progression* *J Clin Invest* 2020; 118:2722-2732.

22. *Alonso-Magdalena P. A role for epithelial-mesenchymal transition in the etiology of benign prostatic hyperplasia. PNAS 2009; 106:2859-2863.*
23. *Lou Y. Epithelial-Mesenchyma/ Transition (EMT) Is Not Sufficient for Spontaneous Murine Breast Cancer Metastasis. Dev Dyn. 2008;237:2755-68.*
24. *Jiménez et al, Cáncer Renal. Cancerología 6 (2011): 19 - 24*
25. *Jemal A., Siegel R., Ward E., Hao Y., Xu J., Thun M. Cancer Statistics, 2009. Cancer J Clin. 2009; 59: 1-68*
26. *Dirección General de Epidemiología; SSA. Registro Histopatológico de Neoplasias Malignas en México. 2003*
27. *Choyke PL. Hereditary Renal Cancers. Radiotherapy 2003; 226: 33-46*
28. *Rosai and Ackerman's Surgical Pathology - 2 Volume Set: Expert Consult: Online and Print, 10e (Surgical Pathology (Ackerman's)). ISBN: 032306969X*
29. *Leibovich BC, Blute ML, Cheville JC, et al. Nonmetastatic renal cell carcinoma: is it really possible to define rational guidelines for post treatment follow up. Nat Clin Pract Oncol. 2006; 3: 200-213*
30. *Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs (IARC WHO Classification of Tumours) ISBN: 9283224159*
31. *Wang S, Chen Q, Simon TC, Strebeck F, Chaudhary L, Morrissey, J, Liapis H, Klahr S, Hruska KA: Bone morphogenic protein- 7 (BMP-7), a novel therapy for diabetic nephropathy. Kidney Int 63: 2037-2049, 2003*
32. *ALGABA, F. et al. Aplicación clínica de las actuales clasificaciones del cáncer renal. Actas Uro/ Esp [online]. 2006, vol.30, n.4 [citado 2014-02-17], pp. 372-385*

33. Santana-Ríos Z, et al. *Estadificación del cáncer de células renales; historia, evolución y perspectivas actuales. Rev Mex Urol/ 2011;71 (5):296-302*
34. Compton et al. (eds.), *AJCC Cancer Staging Atlas: A companion to the Seventh Editions of the AJCC Cancer Staging Manual and Handbook* © 2012 American Joint Committee on Cancer, 001 10.1007/978-1-4614-2080-4_43, Part IX: Genitourinary sites, Chapter 43: Kidney, pages:557-566
35. Leibovich AE, Motzer ML, Cheville JE, et al. *Nonmetastatic renal cell carcinoma: is it really possible to define rational guidelines for post treatment follow up. Nat e/in Pract Oncol. 2006; 3: 200-213*
36. Wang S, Chen Q, Simon IG, Strebeck F, Chaudhary L, Morrissey J, Liapis H, Klahr S, Hruska KA: *Bone morphogenic protein-7 (BMP-7), a novel therapy for diabetic nephropathy. Kidney Int 63: 2037-2049, 2003*