

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON
FACULTAD DE MEDICINA



EXPRESIÓN DE CXCR4 Y ANHIDRASA CARBÓNICA EN
TUMORES RENALES

Por

Dra. Adriana Galdámez Tapia

COMO REQUISITO PARCIAL **PARA** OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN **ANATOMIA** PATOLOGICA

FEBRERO 2014

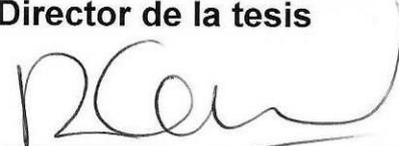
2.

EXPRESION DE CXCR4 Y ANHIDRASA CARBONICA EN TUMORES
RENALES

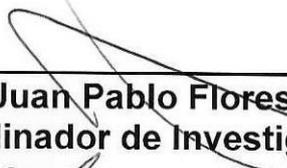
Aprobación de la tesis:



Dr. med. Juan Pablo Flores Gutiérrez
Director de la tesis



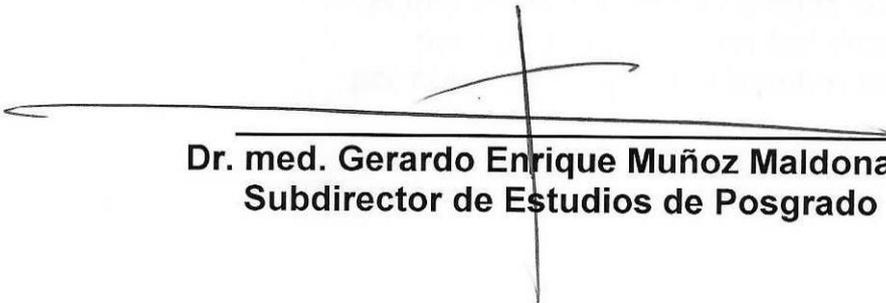
Dra. med. Raquel Garza Guajardo
Coordinador de Enseñanza



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

AGRADECIMIENTOS

A mis maestros y compañeros residentes por ser ejemplo,
guía y un gran apoyo.

A mis amigas y ahora colegas Sayuri, Ligia y Yuri por
ser un ejemplo de fortaleza y dedicación, y por
compartir hombro a hombro este largo camino.

"Nadie está a salvo de las derrotas, pero es mejor perder algunos combates en la lucha por nuestros sueños, que ser derrotado sin saber siquiera por qué se está luchando"

DEDICATORIA

A mis padres **Adrian** y **Dora María** y mis hermanos **Oz, Julia** y **Fran** que han sido el pilar y mi fortaleza en las batallas de la vida A mis suegros **Emilia** y **Jesús** por su apoyo A mi esposo **Jesús** y mis hijos **Adrian** y **Fernanda** por ser mi secreto de la
felicidad

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Capítulo I	
1. RESUMEN	1
Capítulo II	
2. INTRODUCCIÓN	3
2.2 FACTOR INDUCIBLE DE HIPOXIA.	4
2.3 CXCR4	5
2.4 ANHIDRASA CARBONICA.	6
Capítulo III	
3. HIPÓTESIS	8
3.1 HIPÓTESIS NULA.	8
Capítulo IV	
4. OBJETIVOS	9
4.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS	9
Capítulo V	
5. MATERIAL Y MÉTODOS	1
0	
Capítulo VI	
6. RESULTADOS	15
Capítulo VII	
7. DISCUSIÓN	23

Capítulo VIII

8. CONCLUSIÓN 25

Capítulo IX

9.- BIBLIOGRAFÍA. 26

INDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1.Graduación nuclear de Furhman	13
2.Evaluación de expresión de marcadores de Inmunohistoquímica	14
3.Características clinicopatológicas de los casos incluidos	16
4.Expresión de CXCR4 según la variedad histológica	18
5.Expresión de Anhidrasa Carbónica según la variedad histológica	21

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
3.Respuesta determinada por el HIF	5
4.Elaboración de bloques de parafina con 9 casos incluidos	12
5.Laminillas con tinción de IHQ	12
6.Expresión de CXCR4 en carcinoma de células claras	17
7. Carcinoma de células renales con grado nuclear de Furhman 2 con expresión membranosa	18
6.Expresión de CXCR4 y AC en Oncocitomas	19
7.Expresión de CXCR4 en variedades especiales	20
8.Expresión de CXCR4 en carcinoma con patrón sarcomatoide	21

LISTA DE ABREVIATURAS

HIF: Factor Inducible de Hipoxia

VHL: Von Hippel Lindau

AC: Anhidrasa Carbónica

IL-2: Interleucina 2

EXPRESION DE CXCR4 Y ANHIDRASA CARBONICA EN TUMORES RENALES

1.- RESUMEN

Las neoplasias de células renales son tumores que se originan del epitelio renal tubular y representan el 2% de todas las neoplasias malignas del organismo. Molecularmente se caracterizan por una alta tasa de inactivación del gen supresor de tumores Von Hippel-Lindau (VHL). El producto del gen tiene como una de sus funciones, la regulación del "factor inducible de hipoxia" (FIH). Este factor de transcripción controla la expresión de genes y proteínas implicados en la angiogénesis, la eritropoyesis, la glucólisis, la invasión, la apoptosis, el tono vascular, la regulación del pH, la homeostasis epitelial y la resistencia a los fármacos, entre ellos el CXCR4, una quimiocina implicada en la capacidad metastásica de los tumores. La Anhidrasa carbónica es una proteína inducida por hipoxia que juega un rol importante en la regulación del pH intracelular y extracelular y que se ha descrito su expresión en tumores renales, sin embargo no está bien establecido.

JUSTIFICACIÓN

En nuestro medio, el carcinoma renal representa una causa importante de enfermedad y mortalidad por cáncer; por lo tanto es de suma importancia, primero conocer la relación que existe entre los factores oncogénicos y las características histológicas para posteriormente poder usar estos elementos en la selección de pacientes para el uso de terapia blanco molecular.

OBJETIVO

Determinar la relación que existe entre la variedad histológica de los tumores renales con la expresión de Anhidrasa Carbónica y CXCR4.

HIPOTESIS

La expresión de CXCR4 y Anhidrasa Carbónica es diferente dependiendo de la variedad histológica en los tumores renales y por lo tanto se describirá su heterogeneidad de expresión.

MATERIAL Y METODOS

Se revisaron los archivos del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario de la UANL en busca de tumores primarios renales resecados por nefrectomía. Se seleccionó el área mejor preservada de donde se tomó un sacabocado del bloque de parafina para la realización microarreglos y realizar estudios de Inmunohistoquímica a base de CXCR4 y Anhidrasa Carbónica a partir de éstos.

RESULTADOS

Se analizaron un total de 123 casos. A pesar de que los carcinomas de células claras solo presentaron expresión de CXCR4 en el 30% de los casos, ésta expresión tuvo relación con aquellos tumores con grado nuclear alto y estadio clínico avanzado. El resto de los tumores de variedad no células claras presentaron positividad para este marcador en el 95.6% de los casos, solo un carcinoma cromóforo no expresó este inmunomarcador. Anhidrasa carbónica tuvo un patrón de expresión variable el cual no correlacionó con la variedad histológica ni con el estadio clínico.

CONCLUSIONES

La expresión de CXCR4 en los tumores renales podría ser de ayuda para identificar tumores de variedad no células claras, ya que la mayoría (>95%) de nuestros casos de variedad especial presentó positividad para este marcador. Cuando CXCR4 se expresa en tumores de células claras, lo hace en aquellos que presentan un mayor grado nuclear y un estadio clínico más avanzado, por lo que en un futuro este marcador se podría usar como indicador de terapia blanco.

11.- INTRODUCCION

Las neoplasias de células renales son tumores que se originan del epitelio renal tubular ⁽¹⁾ La clasificación de los tumores renales de la Organización Mundial de la Salud incluye cerca de 50 distintas entidades en donde se clasifican lesiones benignas así como neoplasias malignas ⁽²⁾.

El carcinoma de células renales es la variedad histológica más común de neoplasia epitelial renal y representa cerca del 2% de todas las neoplasias malignas del organismo, con 36,000 nuevos casos diagnosticados por año en Estados Unidos y 190,000 alrededor del mundo ^(3,4) y es el responsable de la mayor cantidad de muertes por cáncer renal y de enfermedad metastásica ^(5,5) En el momento del diagnóstico, poco más del 30% de los pacientes tendrá enfermedad metastásica, y de los pacientes sometidos a nefrectomía por enfermedad localizada, presentarán metástasis de un 30-50% ^(?,a) El amplio espectro de subtipos histológicos y las limitadas opciones terapéuticas para la enfermedad sistémica representan un reto para el clínico en términos del correcto diagnóstico y clasificación así como el manejo de la enfermedad avanzada.

Las neoplasias epiteliales renales presentan una morfología altamente variable en términos de patrón de crecimiento y características citológicas y por lo tanto presentan sobreposición de estas características entre los diferentes subtipos histológicos.

Molecularmente estas lesiones se caracterizan por una alta tasa de inactivación del gen supresor de tumores Von Hippel-Lindau (VHL) ⁽⁹⁾ Este gen supresor está localizado en el cromosoma 3p25 y juega un importante rol en el

carcinoma de células renales hereditario y esporádico. El producto del gen VHL tiene múltiples funciones, una de las más importantes es la regulación del factor de transcripción "factor inducible de hipoxia" (FIH) (^{10, 11})_

2.2.- Factor Inducible de Hipoxia (HIF)

Los tumores sólidos, por lo general, existen y progresan en un ambiente de hipoxia; así se observa que las células tumorales son resistentes a la apoptosis y se acompañan de un aumento de la angiogénesis, volviéndose más agresivas, con capacidad invasora y resistentes al tratamiento. La genética y los mecanismos biológicos subyacentes a este fenómeno son todavía poco claros, pero muchos estudios sugieren un papel del factor inducible por hipoxia (HIF) en este proceso.

El HIF es un factor de transcripción que regula la respuesta celular a la hipoxia y actúa como regulador de la homeostasis del oxígeno. Este factor de transcripción controla la expresión de decenas de productos de los genes y proteínas implicados en la angiogénesis, la eritropoyesis, la glucólisis, la invasión, la apoptosis, el tono vascular, la regulación del pH, la homeostasis epitelial y la resistencia a los fármacos, entre ellos el CXCR4, una quimiocina implicada en la capacidad metastásica de los tumores (Figura 1).

La hipoxia tumoral se ha asociado a mal pronóstico en numerosos tipos de cáncer y este comportamiento se ha observado en tumores de próstata, mama, sistema musculoesquelético, cabeza y cuello, y cervix, asociándolos a mayor tasa de fracaso a la radioterapia, quimioterapia y al aumento de las metástasis.

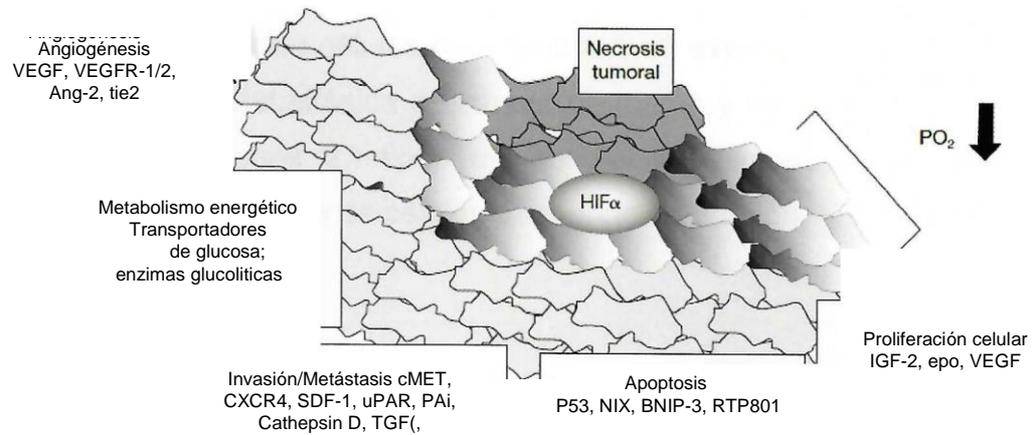


Figura 1.- Respuestas determinadas por factor inducible por hipoxia: actúa como el principal regulador fisiológico de la hipoxia. Imagen tomada de Acker y Plate

Se sabe que el pH tumoral es más ácido debido a la mayor producción de lactato y CO₂. Para sobrevivir, las células tumorales necesitan mantener un equilibrio entre el pH intracelular y el extracelular. La Anhidrasa carbónica IX (CA9) ejerce un papel fundamental en este equilibrio; varios estudios han demostrado la correlación entre la hipoxia, angiogénesis, HIF-1a y el CA9 (¹²i).

2.3 CXCR4

El sistema de quimiocinas humanas actualmente incluye más de 40 quimiocinas y 18 receptores de quimiocinas. Estas proteínas regulan el desarrollo y migración de varios tipos celulares. Inicialmente se describieron como factor atrayente de los linfocitos en la inflamación, sin embargo en los últimos años se ha visto la expresión en células hematopoyéticas y no hematopoyéticas (¹³)_

CXCR4 es una quimiocina que juega un importante rol en la hematopoyesis, desarrollo y organización del sistema inmune. La activación de CXCR4 induce migración y sobrevida de células neoplásicas y su expresión ha sido implicada en la diseminación metastásica de cáncer de mama y melanoma. Actualmente se sabe que al menos 23 tipos de neoplasias expresan esta quimiocina (tiroides, mama, carcinoma de células pequeñas de pulmón) (¹⁴)_

En los últimos 5 años se ha descrito la expresión de esta quimiocina en varias neoplasias hematopoyéticas. Su activación induce migración y sobrevida de las células neoplásicas reportado en tumores de sistema nervioso central (¹⁵.¹⁶), neuroblastoma (¹⁷), cáncer colorectal (^{1a}), cáncer de próstata (¹⁹), melanoma (²⁰), entre otros. En pacientes con cáncer de colon y melanoma la expresión en las células tumorales primarias se relaciona con recurrencia, metástasis y sobrevida.

Recientemente se ha descrito la relación entre esta quimiocina y el gen supresor tumoral Von Hippel Lindau. Se sabe que la vía VHL-HIF induce la expresión de CXCR4 y que la sobreexpresión de esta proteína está asociada con pobre pronóstico en los pacientes con carcinoma renal de células claras.

2.4 Anhidrasa Carbónica

Es una proteína transmembrana inducida por HIF implicada en la regulación de la sobrevida celular en respuesta a la hipoxia y acidosis, además juega un rol importante en la regulación del pH intracelular y extracelular (²¹)_ La Anhidrasa carbónica está implicada en desarrollo y progresión tumoral, debido a que regula ciertas actividades celulares como crecimiento, sobrevida y adhesión. La

relación entre la expresión de esta proteína y pobre supervivencia de los pacientes se ha descrito en algunos tumores epiteliales y primarios cerebrales en adultos (22)

Liao y colaboradores (23) reportaron la expresión de esta proteína en carcinoma renal de células claras. Hay estudios que han reportado la expresión de esta proteína en las células tumorales en asociación con resultados favorables en pacientes con carcinoma de células claras metastásico. Actualmente existen trabajos que tratan de ligar la alta expresión de Anhidrasa carbónica con respuesta a tratamiento con interleucina 2 (IL-2). Un reciente estudio retrospectivo sugiere que Sorafenib (agente anti-VEGF) puede tener una actividad preferente con pacientes que presenten alta expresión de Anhidrasa carbónica.

111.- HIPOTESIS

La expresión de CXCR4 y Anhidrasa Carbónica es diferente dependiendo de la variedad histológica en los tumores renales y por lo tanto se describirá su heterogeneidad de expresión.

3.1.- HIPOTESIS NULA

La expresión de CXCR4 y Anhidrasa Carbónica no es diferente dependiendo de la variedad histológica de los tumores renales.

IV.- OBJETIVO

Determinar la relación que existe entre la variedad histológica de los tumores renales con la expresión de Anhidrasa Carbónica y CXCR4.

4.1.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir la expresión de CXCR4 en tumores renales según la variedad histológica
- Describir la expresión de Anhidrasa Carbónica en tumores renales según la variedad histológica
- Correlacionar la expresión de CXCR4 y Anhidrasa Carbónica con el estadio clínico
- Correlacionar la expresión de CXCR4 y Anhidrasa Carbónica con el grado nuclear

V.- MATERIAL Y METODOS

Para la realización de este trabajo se revisaron los archivos de reportes del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio González" de la Universidad Autónoma de Nuevo León comprendidos del 1 de enero de 1995 al 31 de diciembre de 2011 en busca de tumores renales.

El universo de nuestra casuística se determinó como "muestra por accidente" en un periodo de tiempo de 17 años.

5.1 Criterios de Inclusión

- Diagnóstico histológico de tumor de células renales (cualquier variedad)
- Productos de nefrectomías totales
- Disponibilidad de los bloques de parafina
- Adecuada conservación del tejido

5.2 Criterios de Exclusión

- Ausencia de bloques de parafina
- Biopsias incisionales o nefrectomías parciales
- Inadecuada fijación del tejido
- Laminillas de revisión sin bloques de parafina
- Material insuficiente para realizar tinciones de Inmunohistoquímica
- Diagnóstico de tumor mesenquimal o neoplasia metastásica

5.3 Recolección de datos clínicos

De cada caso se extrajeron del reporte anatomopatológico los siguientes datos:

- Edad
- Sexo
- Variedad histológica
- Grado nuclear de Furhman
- Tamaño tumoral
- Estadío Clínico

5.4 Selección del material

Se revisaron todas las laminillas disponibles de cada uno de los casos para seleccionar un área tumoral que fuera representativa y con la menor cantidad de tejido necrótico posible. Las secciones de tejido fueron previamente fijadas con formalina al 10% y embebido en parafina, se realizaron cortes de 5 micras de espesor, montadas en portaobjetos y teñidas con la técnica histológica de rutina de hematoxilina y eosina. Del área marcada se tomó un sacabocado de 5mm del bloque de parafina para la construcción de histoarreglos. Se incluyeron 9 casos por bloque de parafina y un sacabocado de tejido normal como guía (Figura 2). Para cada bloque de parafina se realizaron tinciones de Inmunohistoquímica a base de CXCR4 y Anhidrasa Carbónica (Figura 3).

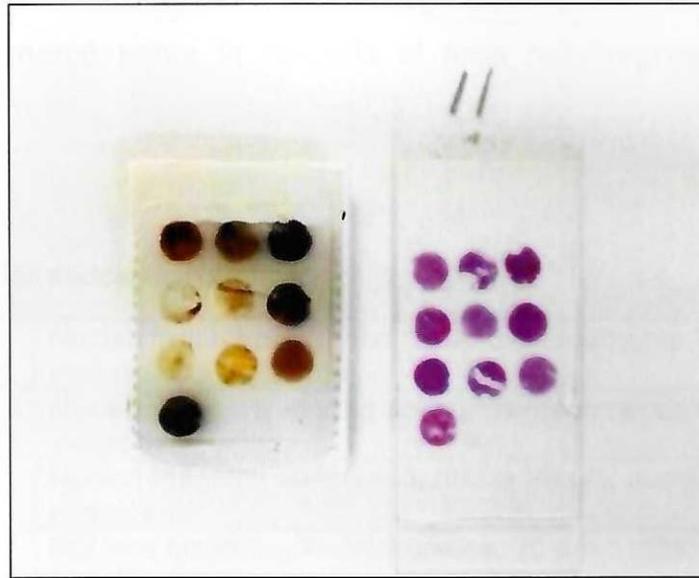


Figura 2.- Elaboración de bloques de parafina con 9 casos incluidos



Figura 3.- Laminilla con tinción de Hematoxilina y Eosina realizada al bloque 11. Laminillas con tinción de Inmunohistoquímica para Anhidrasa carbónica y CXCR4

5.5 Evaluación de laminillas en Hematoxilina y Eosina

De cada caso se evaluó la variedad histológica y el grado nuclear de Furhman (Tabla 1). Se marcó sobre la laminilla el área más representativa y mejor conservada.

Tabla 1.- Graduación nuclear de Furhman

Grado 1	Núcleo redondo, uniforme de aproximadamente 10 μm , nucléolo inconspicuo o ausente
Grado 2	Núcleo ligeramente irregular, aproximadamente 15 μm , nucléolo evidente
Grado 3	Núcleo irregular, aproximadamente 20 μm , nucléolo grande y prominente
Grado 4	Núcleos bizarros y multilobulados, 20 μm o más, nucléolo prominente, cromatina gruesa

5.6 Inmunohistoquímica

Previo a la realización del estudio, las diluciones fueron optimizadas: para CXCR4 usado a 1: 100 (Marca Gene Tex) y Anhidrasa Carbónica 1 :200 (Marca Gene Tex). Para cada bloque de tejido embebido en parafina se realizaron secciones de 4 micras, se tiñeron con la técnica Complejo EstreptoavidinaBiotina incluyendo los pasos de desparafinización, incubación del anticuerpo, recuperación antigénica, digestión enzimática y finalmente la visualización usando el método de DAS (Diamino-benzidina) el cual es adicionado y actúa como un sustrato para la peroxidasa; esta reacción crea una coloración café. La peroxidasa endógena en el tejido es bloqueada previamente a la aplicación de los anticuerpos para prevenir una tinción inespecífica

5.7 Evaluación de los resultados

Cada laminilla de Inmunohistoquímica se evaluó para la presencia o ausencia de expresión para CXCR4 y Anhidrasa carbónica utilizando microscopía de luz. Los criterios de evaluación para cada uno de los marcadores se ilustran en la tabla 2.

Tabla 2.- Evaluación de expresión de los marcadores

Patrón	Citoplásmico	Nuclear	Membranoso	Mixto
Intensidad	O/ Negativo	+/Débil	++ / Intermedio	+++ / Intenso
Proporción	0-25%	26-50%	51-75%	>76%

Se definió como positividad la presencia de expresión para cualquier patrón en una proporción mayor al 25% de las células tumorales y con una intensidad mayor o igual a++.

5.8 Análisis Estadístico

Se trata de un análisis retrospectivo, descriptivo y observacional. Los datos fueron sometidos a distintos tratamientos estadísticos utilizando el programa computacional SPSS versión 17 (SPSS Inc. Software, Chicago, Illinois, USA). Finalmente se realizó un estudio de X^2 como prueba de independencia y para la estimación de varianzas.

VI.- RESULTADOS

En un período de 17 años se recibieron un total de 172,004 especímenes quirúrgicos de los cuales 325 casos correspondieron a tumores renales en pacientes adultos, lo que representa el 0.18% del total de especímenes recibidos en este periodo. Para este trabajo se incluyeron un total de 123 casos los cuales cumplieron con los criterios de inclusión. Una tercera parte de nuestra población de estudio fueron pacientes jóvenes (menores de 50 años) los cuales característicamente presentaron lesiones con mayor tamaño tumoral y con grado nuclear alto (Furhman 3 y 4).

De los casos incluidos 100 (81 %) correspondieron a carcinoma renal de células claras, 6 (4.8%) carcinomas cromófobos, 4 (3.2%) oncocitomas, 8 (6.5%) carcinomas papilares, 1 (0.81 %) carcinoma de duetos colectores de Bellini, 1 (0.81 %) adenoma papilar y 3 (2.4%) carcinomas con patrón sarcomatoide. Las características clinicopatológicas se detallan en la tabla 3. De los 123 casos incluidos en este trabajo 38 pacientes se encontraban en estadio clínico I, 20 pacientes en estadio II, 51 casos en estadio III, 9 casos en estadio IV y 5 casos no se estadificaron ya que se trataban de neoplasias benignas. El tamaño tumoral mayor fue de 17 cm. y el menor de 0.5 cm el cual correspondió al adenoma papilar. El 58.5% de nuestros pacientes fueron del sexo masculino y el resto correspondió al sexo femenino (51 casos). El análisis de IHQ para los dos marcadores fue realizado y evaluado en los 123 casos.

Tabla 3.- Características clinicopatológicas de los 123 casos

Característica	n (%)
<i>Edad en años</i>	
Media	56.21 años
Rango	18-85
<i>Género</i>	
Femenino	51(41.4)
Masculino	72 (58.5)
<i>Grado Nuclear</i>	
1	4 (3.2)
2	47 (38.21)
3	38 (30.89)
4	14 (11.38)
No aplica	20 (16.26)
<i>Tamaño tumoral</i>	
Media	7.5 cm
Rango	0.5-17 cm
<i>Estadio</i>	
I	38 (30.89)
II	20 (16.26)
III	51 (41.46)
IV	9 (7.31)

La expresión por Inmunohistoquímica para CXCR4 y Anhidrasa carbónica se dividió en positividad débil (menos del 25% de las células neoplásicas positivas con una intensidad de + o menor), positividad fuerte (más del 25% de las células neoplásicas positivas y con intensidad de ++ o mayor) y células negativas.

En los carcinomas de células claras se encontró una positividad fuerte para **CXCR4** en el 30% de los casos estudiados y una positividad débil en el 7%; más de la mitad de los casos fueron negativos para este marcador (Figura 4). 20 casos presentaron un patrón de expresión de membrana y 10 casos presentaron un patrón de expresión nuclear con intensidad moderada.

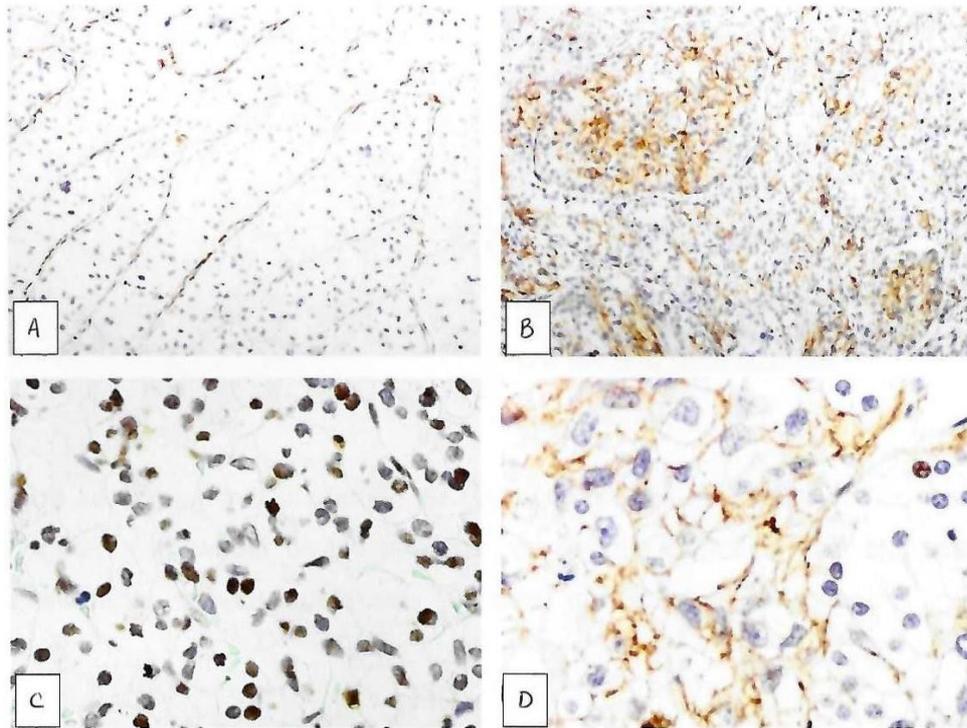


Figura 4.- Expresión de CXCR4 en carcinoma de células claras A).- Células neoplásicas negativas B).- Positividad en la membrana citoplásmica con intensidad de ++ C).- Positividad nuclear con intensidad moderada D).- Expresión membranosa con intensidad moderada

La mayoría de los casos de carcinomas de células claras que mostraron positividad para CXCR4 tenían un grado nuclear de Furhman 3 y 4 (63%) con un patrón membranoso y con más del 70% de las células positivas; la intensidad de expresión fue moderada para este grupo, comparándolo con el 30% de tumores con grado nuclear 2 que expresaron este marcador con una intensidad moderada, pero con alrededor del 50% o menos de las células neoplásicas positivas. Ninguno de los carcinomas de células claras con grado nuclear 1 mostraron expresión de este marcador (p 0.0045).

12.



Figura 5.- Carcinoma de células renales con grado nuclear de Furhman 2 con expresión membranosa en el 50% de las células neoplásicas

Cuando se comparó la expresión de CXCR4 en base al estadio clínico, se vio que el 70% (36 casos) de los tumores con estadio clínico III y IV expresaron este marcador comparándolo con 15 casos que estaban en estadio I y II (p 0.0065).

En general los tumores de células renales de tipo no células claras mostraron positividad difusa con una intensidad de moderada a fuerte y con un patrón de expresión nuclear en la mayoría de ellos, acompañándose de una expresión de membrana en el 10% de los casos. Los resultados se resumen en la tabla 4.

Tabla 4.- Expresión de CXCR4 según la variedad histológica

Variedad	CXCR4		
	Débil	Fuerte	Negativo
Carcinoma de células claras	7 (7)	30 (30)	63 (63)
Oncocitoma	0	4 (100)	0
Carcinoma Cromóforo	2(33)	3 (50)	1 (17)
Carcinoma Papilar	3 (57.5)	5 (62.5)	0
Adenoma papilar	0	1 (100)	0
Carcinoma con patrón sarcomatoide	0	3 (100)	0
Carcinoma de túbulo colectores	0	1 (100)	0
		p Value 0.0031	

13.

La totalidad de los casos de oncocitomas (4) mostraron una positividad fuerte para CXCR4 con un patrón de expresión nuclear en el 100% de ellos y con una intensidad de al menos ++, en uno de los casos este patrón de expresión se acompañó de una expresión citoplásmica. Los oncocitomas mostraron un patrón de expresión citoplásmico y nuclear para Anhidrasa carbónica con una intensidad moderada en 3 casos y con una intensidad leve en 1 caso (Figura 6).

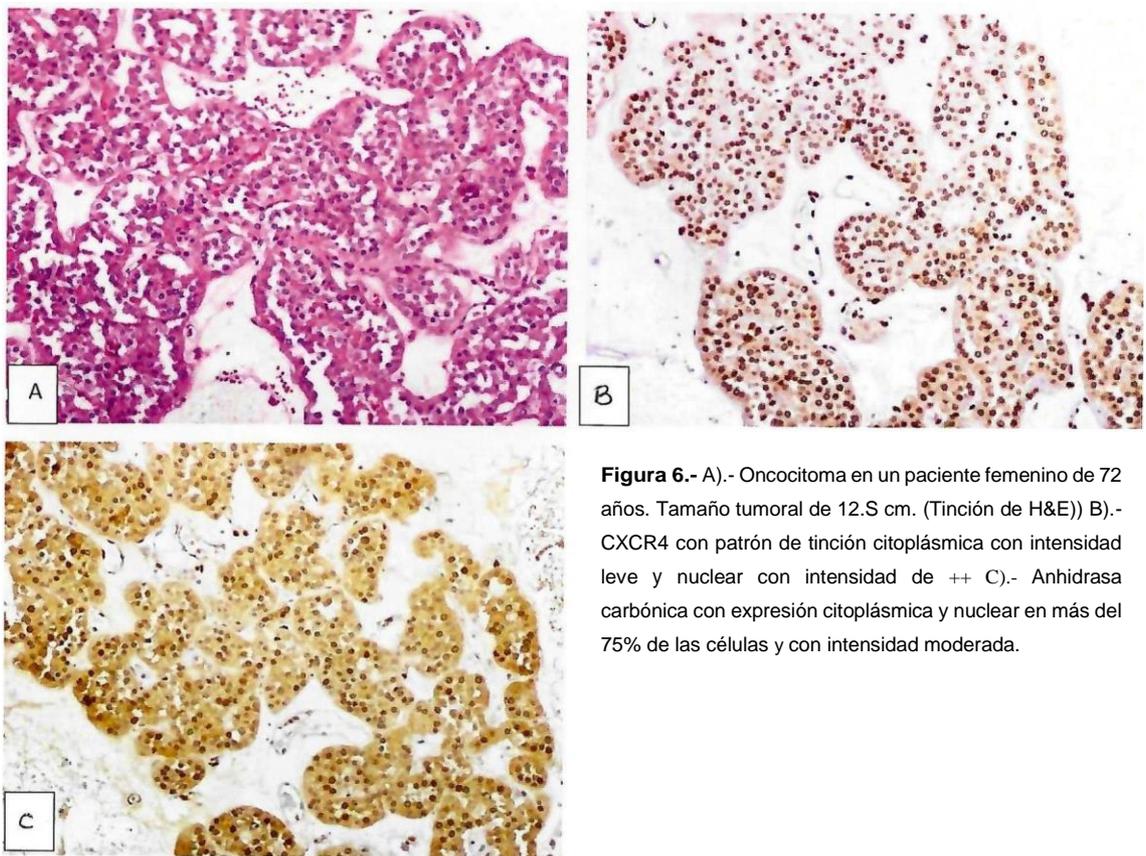


Figura 6.- A).- Oncocitoma en un paciente femenino de 72 años. Tamaño tumoral de 12.S cm. (Tinción de H&E) B).- CXCR4 con patrón de tinción citoplásmica con intensidad leve y nuclear con intensidad de ++ C).- Anhidrasa carbónica con expresión citoplásmica y nuclear en más del 75% de las células y con intensidad moderada.

14.

De los casos de variedades especiales la inmensa mayoría mostró algún grado de expresión para CXCR4, solo un caso de carcinoma cromóforo fue completamente negativo. Los 3 casos de carcinoma con patrón sarcomatoide mostraron expresión nuclear acompañado de un caso de tinción citoplásmica (Figura 7 y 8).

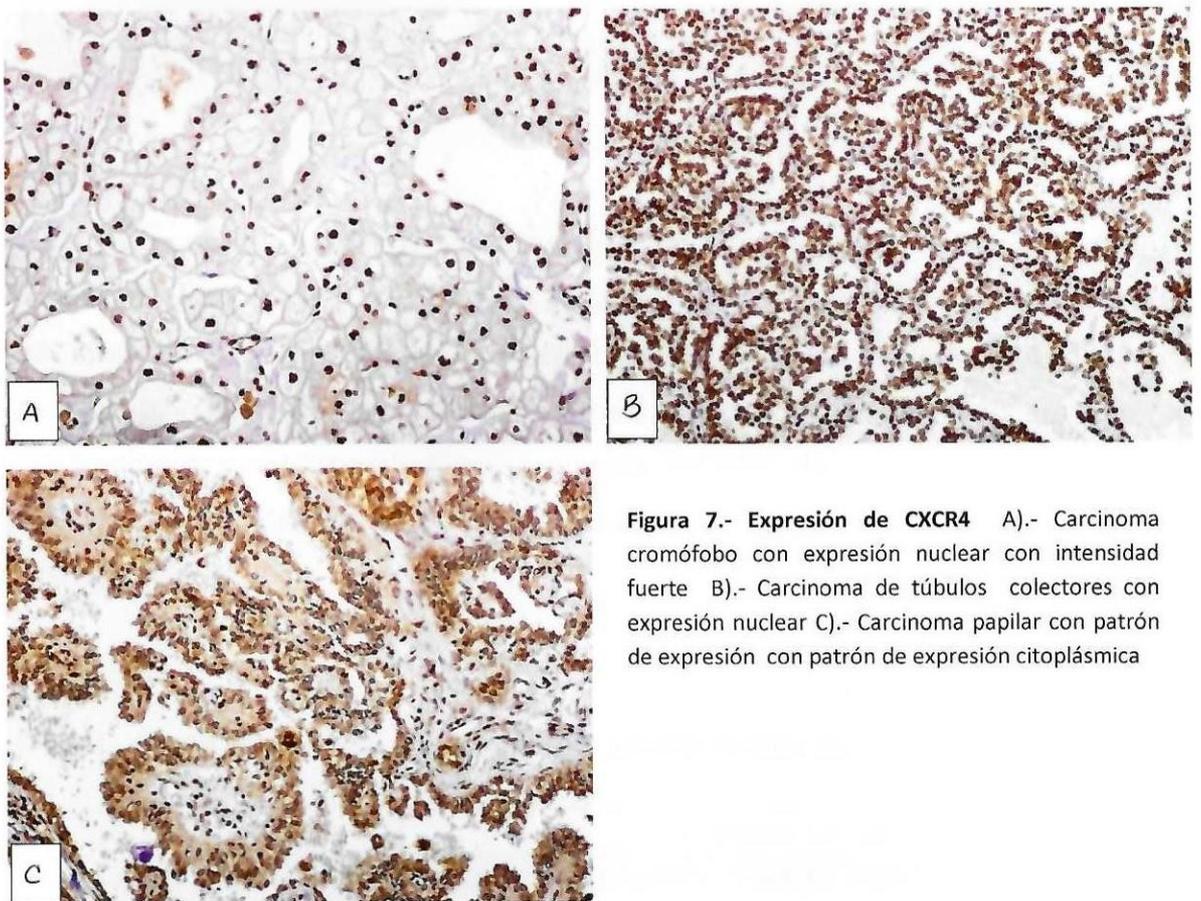


Figura 7.- Expresión de CXCR4 A).- Carcinoma cromóforo con expresión nuclear con intensidad fuerte B).- Carcinoma de túbulos colectores con expresión nuclear C).- Carcinoma papilar con patrón de expresión con patrón de expresión citoplásmica

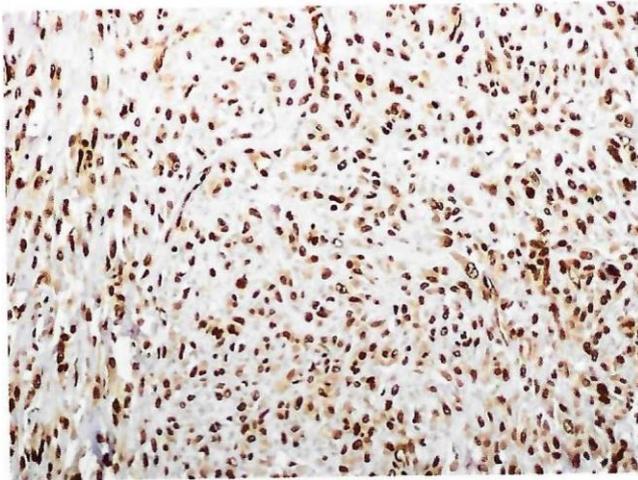


Figura 8.- Carcinoma de células renales con patrón sarcomatoide con expresión nuclear intensa de CXCR4 acompañado de expresión citoplásmica.

Para Anhidrasa carbónica la expresion en los tumores renales según la *variedad histológica se describe en la tabla 5. A pesar de no tener un resultado estadísticamente significativo, la expresión de este marcador se observó en poco más del 50% de los carcinomas de células claras con un patrón predominantemente membranoso y en más del 90% de las células neoplásicas. Todos los casos de tumores de variedad especial mostraron algún grado de positividad.*

Tabla 5.- Expresión de Anhidrasa Carbónica en tumores renales según la variedad histológica

Variedad	Anhidrasa Carbónica		
	Débil	Fuerte	Negativo
Carcinoma de células claras	37	53	10
Oncocitoma	1	3	0
Carcinoma Cromóforo	0	6	0
Carcinoma Papilar	1	7	0
Adenoma papilar	1	0	0
Carcinoma con patrón sarcomatoide	1	2	0
Carcinoma de túbulos colectores	0	1	0

p Value 0.0907

Al estudiar la positividad para Anhidrasa carbónica comparándola con el patrón de expresión se observó que los oncocitomas presentaban un patrón de tinción citoplásmico y nuclear en la totalidad de los casos al igual que el carcinoma de túbulo colectores; el carcinoma cromóforo y el carcinoma papilar mostraron en la mayoría de sus casos un patrón de expresión citoplásmico y el carcinoma de células claras presento en 62 casos un patrón de expresión membranoso (33 casos con un patrón puro de membrana, y el resto acompañado de un patrón citoplásmico o nuclear) (p .000028).

La relación de expresión de Anhidrasa carbónica con el estadio clínico no tuvo un resultado estadísticamente significativo.

VII.- DISCUSION

El CXCR4 es una quimiocina que se ha estudiado en cáncer pulmonar, colónico y ovárico con resultados controversiales. Espano y colaboradores ⁽²⁴⁾ investigaron la expresión de esta quimiocina en carcinoma de células pequeñas de pulmón y su relación con la sobrevida en sus pacientes y encontraron que se expresaba en estadios 1, con localización nuclear y citoplásmica y correlacionando la expresión intensa de este marcador con una mejor sobrevida en sus pacientes. Por otro lado Otsuka y colaboradores ⁽²⁵⁾ encontraron que la sobreexpresión de esta quimiocina estaba asociada con pobre sobrevida en pacientes con estadio avanzado.

Mohamed y Azis ⁽²⁵⁾ mostraron que la expresión estaba relacionada con pobre pronóstico y que podría ser un potencial factor predictivo de recurrencia y metástasis en pacientes con cáncer colorectal.

Este trabajo determina el rol del CXCR4 en tumores renales y provee evidencia del uso de esta proteína como marcador de progresión del cáncer al expresarse en tumores con alto grado nuclear y estadios clínicos avanzados.

A pesar de que este marcador solo se expresó en el 30% de los carcinomas de células claras, La expresión de este marcador correlacionó con aquellos pacientes que se encontraban en mayor estadio clínico y con grado nuclear III y IV con un patrón de expresión nuclear con intensidad moderada a fuerte, en comparación con los carcinomas con grado nuclear I y II los cuales mostraron un patrón de tinción membranoso y citoplásmico.

En la actualidad, la base del tratamiento del carcinoma de células renales primario es la cirugía. Para los pacientes con enfermedad metastásica, el tratamiento con agentes dirigidos recientemente ha mostrado cierto éxito, pero desafortunadamente, no todos los tumores responden y las respuestas no son duraderas. Hasta la fecha, el único tratamiento para el carcinoma avanzado que puede dar lugar a supervivencia libre de enfermedad a largo plazo son altas dosis de IL-2.

Por su parte Bui y colaboradores reportaron que una alta expresión de Anhidrasa Carbónica se asoció con un mejor pronóstico para los pacientes con enfermedad metastásica al momento del diagnóstico. Además encontraron que entre los pacientes con metástasis que recibieron IL-2, la tasa de respuesta fue mayor en comparación con los pacientes con baja expresión de este marcador.

VIII.- CONCLUSION

Una gran parte de los tumores renales en nuestro estudio se presentó en población joven (menores de 50 años).

La Anhidrasa Carbónica en los tumores renales presenta un patrón de expresión heterogéneo, sin tener un resultado significativo cuando se compara con el estadio clínico o con la variedad histológica, sin embargo se observó que en los oncocitomas la totalidad de los casos mostraron un patrón de tinción citoplásmica y nuclear y en los carcinomas de células claras se presentó un patrón de positividad membranoso en más del 90% de las células neoplásicas.

Por su parte en la expresión de CXCR4 se observó de manera constante su positividad en los carcinomas de células claras que presentaban un mayor estado clínico (estadio III y IV) y con grado nuclear alto, lo cual podría indicar su presencia en la progresión en estos carcinomas.

Debido a que la mortalidad por cáncer renal es principalmente el resultado de las metástasis, los tratamientos que retrasan o impiden este acontecimiento, podrían aumentar significativamente las tasas de supervivencia. El CXCR4 podría servir en un futuro como un marcador de pronóstico en la progresión del carcinoma renal.

IX.- BIBLIOGRAFIA

1. - Bostwick David, Cheng Liang. Urologic Surgical Pathology. Second Edition. Mosby Elsevier. Pag 77
- 2.- Eble JN, Sauter G, Epstein JI, et al, eds. WHO Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon, France: IARC Press; 2004.
- 3.- Masaru Mural: Mototsugu Oya. Renal cell carcinoma: etiology, incidence and epidemiology. Kidney cáncer. Pag 229-233
- 4.- Kopper L, Timar J. Genomics of renal cell cancer - does it provide breakthrough?. Pathology oncology research 2006; vol12, No 1
- 5.- Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics 2008. CA Cancer J Clin. 2008;58:71-97.
- 6.- Reuter VE. The pathology of renal epithelial neoplasms. Semin Oncol. 2000; 33:534-543.
- 7.- Figlin RA. Renal cell carcinoma: management of advanced disease. J Urol. 1999; 161 :381-386.
- 8.- Janzen NK, Kim HL, Figlin RA, et al. Surveillance after radical or partial nephrectomy for localized renal cell carcinoma and management of recurrent disease. Urol Clin North Am. 2003;30:843-852
- 9.- Rubio J. Calatrava A, Fernandez A, et al. Expresión inmunohistoquímica de la densidad microvascular y de la anhidrasa carbónica IX en carcinoma renal. Relación con el tipo histológico y con la progresión tumoral. Actas Urológicas Españolas 2011;80-86.
- 10.- William G. Kaelin Jr. The von Hippel-Lindau Tumor supresor protein and clear cell renal carcinoma. Clin Cancer Res 2007;13 (2 suppl).

- 11.- Makino Y, Cao R, Svensson K, et al Inhibitory PAS domain protein is a negative regulator of hypoxia-inducible gene expression. *Nature* 2001; 414:550- 4
- 12.- Van den Eynden GG, Van der Auwera I, Van Laere SJ, Colpaert CG, Turley H, Harris AL, et al. Angiogenesis and hypoxia in lymph node metastasis is predicted by the angiogenesis and hypoxia in the primary tumour in patients with breast cancer. *BR J Cancer*. 2005;93: 1128-36.
- 13.- Jan A. Burger and Thomas J. Kipps. Microenvironment CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their 2006 107: 1761-1767
- 14.- Chemokine receptor CXCR4 and early-stage non-small cell lung cancer: pattern of expression and correlation with outcome J.-P. Spano¹, F. Andre², L. Morat³, L. Sabatier³, B. Besse², C. Combadiere⁴, P. Deterre⁴, A. Martin⁵, J. Azorin⁵, D. Valeyre⁵, D. Khayat¹, T. Le Chevalier² & J.-C. Soria^{2,3*}
- 15.- Zhou Y, Larsen PH, Hao C, Yong VW. CXCR4 is a major chemokine receptor on glioma cells and mediates their survival. *J Biol Chem*. 2002;277: 49481-49487.
16. Rubin JB, Kung AL, Klein RS, et al. A small- molecule antagonist of CXCR4 inhibits intracranial growth of primary brain tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003; 100: 13513-13518.
17. Geminder H, Sagi-Assif O, Goldberg L, et al. A possible role for CXCR4 and its ligand, the CXC chemokine stromal cell-derived factor-1, in the development of bone marrow metastases in neuroblastoma. *J Immunol*. 2001;167:4747- 4757.
18. Zeelenberg IS, Ruuls-Van Stalle L, Roos E. The chemokine receptor CXCR4 is required for outgrowth of colon carcinoma micrometastases. *Cancer Res*. 2003;63:3833-3839.

19. Wang J, Sun Y, Song W, Nor JE, Wang CY, Taichman RS. Diverse signaling pathways through the SDF-1/CXCR4 chemokine axis in prostate cancer cell lines leads to altered patterns of cytokine secretion and angiogenesis. *Cell Signal*. 2005; 17: 1578-1592.
20. Scala S, Ottaiano A, Ascierto PA, et al. Expression of CXCR4 predicts poor prognosis in patients with malignant melanoma. *Clin Cancer Res*. 2005; 11: 1835-1841.
- 21.- Ivanov S, Liao SY, Ivanova A, et al. Expression of hypoxia-inducible cell surface transmembrane carbonic anhydrases in human cancer. *Am J Pathol*. 2001; 158:905-919.
- 22.- Lavada J., Zavadova Z., Pastorek J., et al: Human tumour associated cell adhesion protein MN/CA IX: identification of M75 epitope and of the region mediating cell adhesion. *Br J Cancer* 2000; 82: 1808-181
- 23.- Liao SY, Aurelio ON, Jan K, et al. Identification of the MN/CA9 protein as a reliable diagnostic biomarker of clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Res*. 1997;57:2827-2831.
- 24.- J.-P. Spano, F. Andre, L. Morat, L. Sabatier, B. Besse. Chemokine receptor CXCR4 and early-stage non-small cell lung cancer: pattern of expression and correlation with outcome. *Annals of Oncology* 15: 613-617, 2004
- 25.- Shannon Otsuk, Alexander C. Klimowicz, Karen Kopciuk. CXCR4 Overexpression Is Associated with Poor Outcome in Females Diagnosed with Stage IV Non-small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology* • Volume 6, Number 7, July 2011
- 26.- Mie A. Mohamed and Azza Abdel-Aziz. Evaluation of CXCR4 chemokine receptor as a prognostic marker in colorectal carcinoma. *Egyptian Journal of Pathology* 2011, Vol 31 No 1