

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS
FACULTAD DE MEDICINA**

TESIS DOCTORAL

**ESTUDIO DE MARCADORES DE TRANSICIÓN
EPITELIO-MESÉNQUIMA EN NEOPLASIAS RENALES**

AUTOR

NURIA CADENAS GONZÁLEZ

DIRECTORES

**Dr. Fco. JAVIER FREIRE SALINAS
Dr. JOSÉ JAVIER GÓMEZ ROMÁN**

Santander, Diciembre 2.015

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA



Memoria presentada por **D^a Nuria Cadenas González** para aspirar al grado de Doctor por la Universidad de Cantabria.

(firma del doctorando)

El presente trabajo ha sido realizado bajo mi dirección en el Laboratorio de Patología Molecular del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla y autorizo su presentación ante el Tribunal que lo ha de juzgar.

Santander, 22 de diciembre de 2015

(firma del Director de la Tesis Doctoral)

Fco. Javier Freire Salinas

José Javier Gómez Román

***A mis Padres
Jose y Lidia
Siempre estáis a mi lado***

A los Doctores Javier Freire y Javier Gómez, por su paciencia, dedicación y su gran sabiduría. Imposible expresar con palabras mi agradecimiento.

A mis hermanos, Ana y José, por aguantarme tanto y mostrarme su apoyo incondicional.

Al Doctor Enrique de Diego, contigo empezó todo.

Al Doctor Ignacio Cantero, por sus buenos consejos y ánimos desde mi residencia hasta mi doctorado. Lo conseguimos.

Al Servicio de Anatomía patológica del HUMV y en especial al Departamento de Biología Molecular y personal del IDIVAL, gracias por tratarme como una compañera más y prestarme desinteresadamente vuestra ayuda y vuestras instalaciones.

A Pedro Muñoz, por sacarme adelante con la estadística.

A las enfermeras, que durante estos años se han preocupado de mí en el transcurso de las guardias.

ÍNDICE

Contenido

| | |
|--|----|
| ÍNDICE..... | 11 |
| ABREVIATURAS | 15 |
| RESUMEN..... | 19 |
| INTRODUCCIÓN..... | 25 |
| EPIDEMIOLOGÍA..... | 29 |
| ETIOLOGÍA..... | 31 |
| 1. FACTORES AMBIENTALES | 32 |
| 2. FACTORES DE PREDISPOSICIÓN GENÉTICA | 35 |
| CLASIFICACIÓN DE LOS TUMORES RENALES..... | 36 |
| 1. TUMORES DE CÉLULAS RENALES..... | 39 |
| ESTADIFICACIÓN..... | 52 |
| CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS | 56 |
| SIGNOS Y SÍNTOMAS LOCALES | 56 |
| MANIFESTACIONES SISTÉMICAS | 57 |
| SIGNOS Y SÍNTOMAS DE LA ENFERMEDAD METASTÁSICA | 60 |
| HISTORIA NATURAL | 60 |
| DIAGNÓSTICO POR IMAGEN | 62 |
| RADIOLOGÍA SIMPLE..... | 62 |
| UROGRAFÍA..... | 63 |
| ULTRASONIDO..... | 63 |
| TOMOGRAFÍA COMPUTERIZADA | 64 |
| RESONANCIA MAGNÉTICA | 64 |
| ANGIOGRAFÍA | 65 |
| MEDICINA NUCLEAR | 65 |
| TOMOGRAFÍA POR EMISION DE POSITRONES (PET)..... | 66 |
| BASES MOLECULARES DEL CÁNCER | 66 |
| TRANSICIÓN EPITELIO MESÉNQUIMA (TEM) | 69 |
| INTEGRINAS | 70 |
| RECEPTOR ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO UROQUINASA | 73 |
| DESMOGLEÍNA 2 | 75 |
| COLAGENO 11 ALFA 1..... | 76 |
| HIPÓTESIS Y OBJETIVOS | 77 |
| 1. ARRAY DE EXPRESIÓN..... | 83 |
| 2. POBLACIÓN DE ESTUDIO | 85 |
| 2.1. SELECCIÓN DE PACIENTES | 85 |
| 2.2. REVISIÓN DE HISTORIAS CLÍNICAS..... | 85 |

| | |
|--|-----|
| 2.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN..... | 87 |
| 2.4. PERIODO DE ESTUDIO | 87 |
| 3. METODOLOGÍA DE EXPERIMENTACIÓN CON MUESTRAS | 88 |
| 3.1. TOMA DE MUESTRAS..... | 88 |
| 3.2. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO | 91 |
| 3.3. VALORACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LAS TÉCNICAS | 92 |
| 4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO | 92 |
| RESULTADOS | 95 |
| 1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE CASOS | 97 |
| 2. SUPERVIVENCIA | 101 |
| 3. ANÁLISIS DE LOS MARCADORES TUMORALES | 105 |
| ITGA6. Integrin alpha 6. | 105 |
| ITGA5. Integrin alpha 5. | 109 |
| DSG2. Desmoglein 2. | 113 |
| COL11A1. Collagen XI, alpha 1. | 116 |
| PLAUR. Urokinase plasminogen activator receptor. | 119 |
| DISCUSIÓN..... | 123 |
| DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN | 127 |
| ANÁLISIS DE LA SUPERVIVENCIA | 131 |
| ITGA6..... | 133 |
| ITGA5..... | 135 |
| DSG2 | 136 |
| COL11A1 | 137 |
| PLAUR..... | 139 |
| CONCLUSIONES..... | 141 |
| BIBLIOGRAFÍA | 145 |

ABREVIATURAS

| | |
|-----------------|--|
| ACTH. | Hormona adrenocorticotropa |
| AJCC. | American Joint Committee on Cancer |
| CCR. | Carcinoma de células renales |
| CCRCC. | Carcinoma renal de células claras |
| CCRF. | Carcinoma de células claras renales familiar |
| CD. | Cluster determinants |
| CK. | Citoqueratinas |
| COL11A1. | Colágeno 11A1 |
| DSG2. | Desmogleína 2 |
| EGFR. | Factor de crecimiento epidérmico |
| ELISA. | Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas |
| EMA. | Antígeno de membrana epitelial |
| GPI. | Glicosil-fosfatidilinositol |
| H&E. | Hematoxilina eosina |
| ICD-O. | Código International Classification of diseases for Oncology |

| | |
|---------------|--|
| IHQ. | Inmunohistoquímica |
| ITGA5. | Integrina alfa 5 |
| ITGA6. | Integrina alfa 6 |
| OMS: | Organización Mundial de la Salud |
| PET. | Tomografía por emisión de positrones |
| PTH. | Hormona paratiroidea |
| PLAUR. | Receptor activador de plaminógeno uroquinasa (UPAR) |
| RCC. | Antígeno del CCR |
| RM. | Resonancia magnética |
| STAT. | Traductor de señales y activador de la transcripción |
| TAC. | Tomografía axial computerizada |
| TC. | Tomografía computerizada |
| TEM. | Transición epitelio mesénquima |
| TNM. | Sistema de estadificación tumor-ganglios-metástasis |
| RB. | Retinoblastoma |
| VEGF. | Factor de crecimiento vascular endotelial. |
| VHL. | Von Hippel-Lindau |
| VIH. | Virus inmunodeficiencia humana |
| VLA. | Very Late Activation |
| WHO. | World Health Organization |
| UICC. | Union for International Cancer Control |

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El cáncer renal constituye en torno al 3% de todas las neoplasias malignas primarias del adulto, siendo la séptima neoplasia más frecuente en varón y la decimosegunda en mujeres. Sin embargo, es un tumor altamente agresivo y está considerado como el más letal de los tumores urológicos, con una mortalidad mayor del 40%.

Para que una célula normal adquiriera un fenotipo maligno se han de adquirir una serie de condiciones o estados, que permitan la viabilidad celular fuera de los controles del sistema. Estas alteraciones implican autosuficiencia en el crecimiento, insensibilidad a factores inhibidores del crecimiento, evasión de la apoptosis, capacidad de replicación ilimitada, capacidad angiogénica y capacidad de invasión y metástasis.

El proceso de Transición Epitelio-Mesénquima hace referencia al cambio fenotípico, por el que las células con características epiteliales adquieren propiedades de células mesenquimales, afectando a su movilidad e invasividad. Entre los muchos factores y genes implicados en este proceso de transición, se encuentran los que hemos estudiado en esta tesis doctoral:

integrinas, receptor activador del plaminogeno uroquinasa, desmogleína 2 y colágeno 11A1.

HIPÓTESIS: La expresión de ciertas proteínas, ligadas a eventos de transición epitelio-mesénquima en el cáncer renal, podrían estar relacionada con la agresividad biológica y comportarse como marcadores pronósticos.

MATERIAL Y MÉTODOS: La población de estudio son 156 pacientes con cáncer renal de las cinco variedades histológicas más frecuentes: carcinoma de células claras (con el subtipo sarcomatoide), carcinoma papilar, carcinoma cromóforo y oncocitoma. El periodo mínimo de seguimiento son 9 años. Se seleccionan 5 genes relacionados con la transición epitelio-mesénquima para evaluar su expresión que son: ITGA6, ITGA5, DSG2, COL11A1 y PLAUR. La metodología de experimentación es: construcción de arrays de tejidos, a partir de muestras fijadas en formol e incluidas en parafina, tinción y estudio inmunohistoquímico, valoración y análisis estadístico.

RESULTADOS: La población objeto de nuestro estudio, se compone de un total de 156 pacientes (95 pacientes con carcinoma de células claras, 17 casos con carcinoma renal de diferenciación sarcomatoide, 15 muestras de oncocitoma, 7 carcinomas cromófobos y 22 carcinomas papilares).

En el análisis de la supervivencia global, la variante sarcomatoide es la que más defunciones provoca, en el polo opuesto se encuentran los oncocitomas y carcinoma cromóforo con menos números de muertes por causa general. Cuando nos centramos en la supervivencia atendiendo a muertes causadas exclusivamente por la neoplasia renal diagnosticada, se observa de igual manera que la morfología sarcomatoide de los tumores renales, es la de comportamiento más agresivo. En cuanto a las defunciones debidas a otra causa, distinta a la neoplásica, el subtipo tumoral que más muertes presentó durante el periodo de estudio, fue el oncocitoma.

Referente al análisis de los cinco marcadores empleados, la ITGA6 mostró un patrón de expresión positivo en un 42,86% de carcinomas cromófobos y en un 57,14% de carcinomas papilares, mostrando sólo tinción excepcional en los oncocitomas.

El estudio de la expresión de la ITGA5, dio como resultado un 72,73% de casos positivos en la diferenciación sarcomatoide, mientras que el carcinoma cromóforo presentó expresión en un 66,67%. La totalidad de los

oncocitomas resultó negativa. Existe una relación muy significativa entre la expresión del marcador y una menor supervivencia, que pudiera estar relacionada con la asociación con el tipo histológico, aunque una proporción importante de Carcinomas cromófobos lo expresan.

El análisis de la inmunohistoquímica de la proteína DSG2, resultó en una positividad del 81,82% de los oncocitomas, del 76,19% de las muestras de variante papilar y del 71,43% de los carcinomas cromófobos.

La expresión de COL11A1 analizada mediante inmunohistoquímica, demostró un aumento muy significativo en la variedad sarcomatoide, comparada con el resto de subtipos histológicos de carcinoma renal.

El análisis inmunohistoquímico de PLAUR reveló una alta expresión de esta proteína en todos los tipos histológicos. El estudio de supervivencia, encontró diferencias significativas favoreciendo aquellos casos negativos para este marcador.

CONCLUSIONES:

- El subtipo Sarcomatoide es el de comportamiento más agresivo entre los tumores renales.
- La expresión de ITGA6 se encuentra asociada al Carcinoma papilar y al Carcinoma cromófobo.
- La totalidad de los Oncocitomas son negativos para ITGA5, mientras que una elevada proporción de Carcinomas cromófobos son inmunoreactivos.
- La expresión de COL11A1 se asocia a la diferenciación sarcomatoide encontrándose inmunotinción en células neoplásicas.
- La expresión de ITGA5, PLAUR y de Colágeno 11A1 está asociada a un peor pronóstico en las neoplasias renales, independientemente del tipo histológico.
- La DSG2 no muestra asociación con tipos histológicos, ni con la supervivencia.

INTRODUCCIÓN

El cáncer renal, es un tumor de baja incidencia pero que se encuentra en aumento en las sociedades industrializadas en las últimas décadas. Esta enfermedad posee un pronóstico claramente desfavorable con una mortalidad que llega hasta un cuarenta por ciento a largo plazo, dependiendo del tipo histológico. Por otro lado, en la actualidad, el único tratamiento con capacidad curativa sigue siendo la cirugía en una fase temprana de la enfermedad, si bien existen tratamientos en desarrollo con resultados esperanzadores como es el caso de la inmunoterapia o fármacos dirigidos frente a dianas moleculares específicas.

El cáncer renal ha experimentado cambios fundamentales en las últimas décadas. El uso generalizado de pruebas diagnósticas de imagen abdominal, ha hecho que aumente el diagnóstico de tumores renales en fase precoz susceptibles de intención curativa. También, el establecimiento de criterios más consolidados para una cirugía conservadora, está cambiando la forma de tratamiento quirúrgico clásico hacia formas menos invasivas. El mejor

conocimiento de la biología molecular y la genética de estos tumores, ha permitido que podamos diferenciar subtipos histológicos tumorales con pronóstico claramente más favorable y se inicie el desarrollo de líneas de investigación sobre nuevos tratamientos basados en terapias génicas.

Uno de los principales problemas con el que nos encontramos en la práctica cotidiana, es determinar el pronóstico de nuestros enfermos con cáncer. Clásicamente se ha denominado factores o criterios pronósticos, a una serie de características, propias del tumor o dependientes del huésped, que van a influir en la historia natural del tumor pero que nos informan relativamente poco acerca de cada paciente individualmente.

A pesar de la dificultad que supone trasladar los resultados de los diferentes estudios, que analizan la evolución tumoral en grupos de pacientes, a nuestro enfermo individual, hoy en día, nuestra mejor herramienta para predecir el curso de la enfermedad y poder ofrecer el tratamiento más adecuado, pasa por el mejor conocimiento de los factores expresados por los distintos genotipos tumorales.

El estudio de determinados mediadores segregados en el mesénquima tumoral y el análisis de ciertos marcadores asociados a dicho mesénquima de células tumorales, permiten clarificar el comportamiento biológico del cáncer renal y pueden resultar de ayuda a la hora de elegir la terapia más adecuada.

El conocimiento de las características biológicas básicas del cáncer y la diferenciación entre los distintos tipos de cáncer renal, están relacionados no solamente con los acontecimientos moleculares que dan lugar a la oncogénesis, sino también, con las zonas del epitelio en las que tiene lugar estos acontecimientos, lo que ocasiona patrones morfológicos, antigénicos e inmunofenotípicos bien definidos. Estas diferencias biológicas quedan reflejadas en las diversas formas de evolución del cáncer renal y también, en la variabilidad del pronóstico de cada paciente. El conocimiento de la biología básica del cáncer renal, es esencial para trasladar los datos experimentales a la cabecera del enfermo en lo que ha sido denominado en la literatura inglesa "from bench to bedside".

EPIDEMIOLOGÍA

El cáncer renal constituye en torno al 3% de todas las neoplasias malignas primarias del adulto, siendo la séptima neoplasia más frecuente en varón y la decimosegunda en mujeres¹. Sin embargo, es un tumor altamente agresivo y está considerado como el más letal de los tumores urológicos (por delante de próstata), con una mortalidad mayor del 40%.

La Tasa de Mortalidad ajustada en España de cáncer renal, se sitúa en torno a las 5 muertes en varones y 2 en mujeres por cada 100.000 habitantes, datos que se asemejan mucho a los descritos para la población Europea².

Este tipo de tumores se distribuyen diferencialmente según la geografía española, así en la zona del País Vasco, Cantabria, Extremadura y Salamanca se observa una mayor incidencia, mientras que la en la zona de Andalucía la aparición de esta neoplasia es menor (figura 1)³

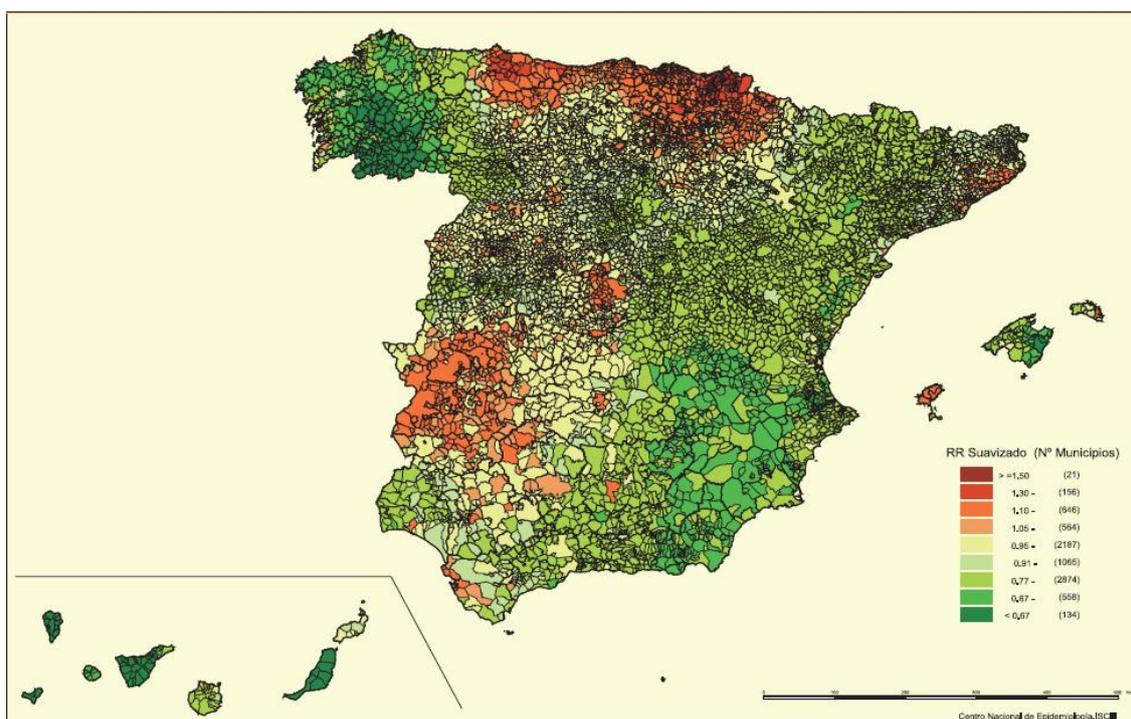


Figura 1. Mapa de incidencia de cáncer renal en España. Atlas municipal de mortalidad por cáncer en España 1989-1998. Instituto Carlos III. 2007.

La supervivencia a 5 años de esta patología en el conjunto de Europa ronda el 50% tanto en hombres como en mujeres⁴ (figura 2). La supervivencia en España se encuentra dentro de la media Europea.

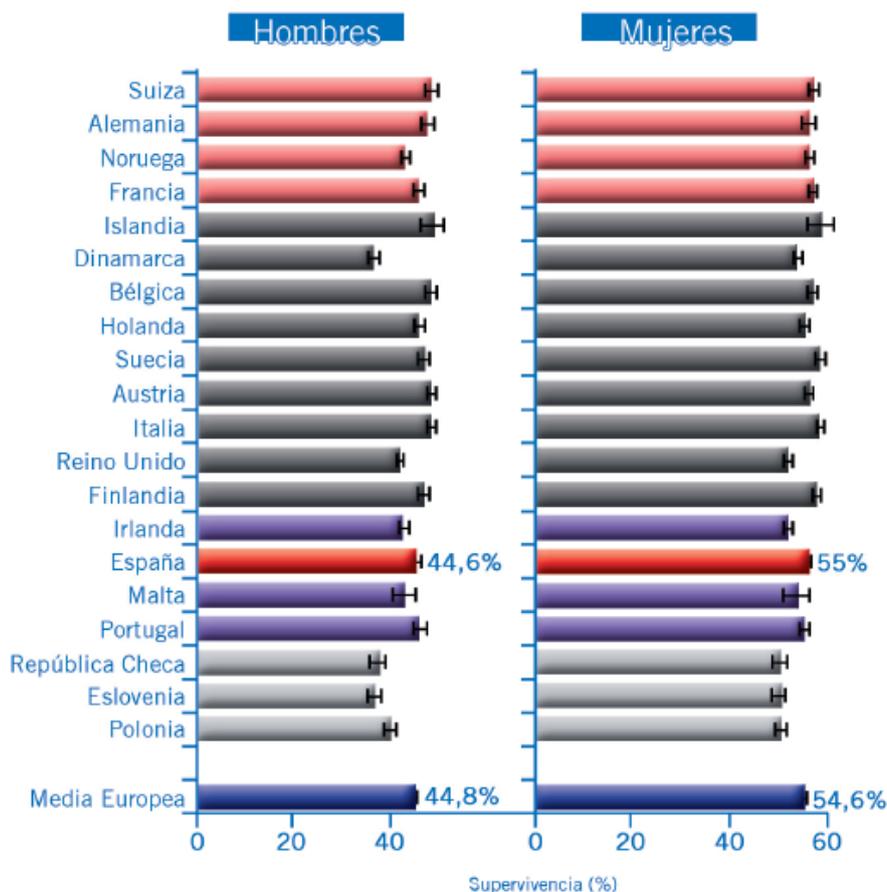


Figura 2. Comparativa supervivencia España-Europa.

La supervivencia global de esta patología ha ido mejorando en los últimos años, principalmente debido a las nuevas terapias y a la detección precoz con nuevas herramientas radiodiagnósticas (Figura 3).

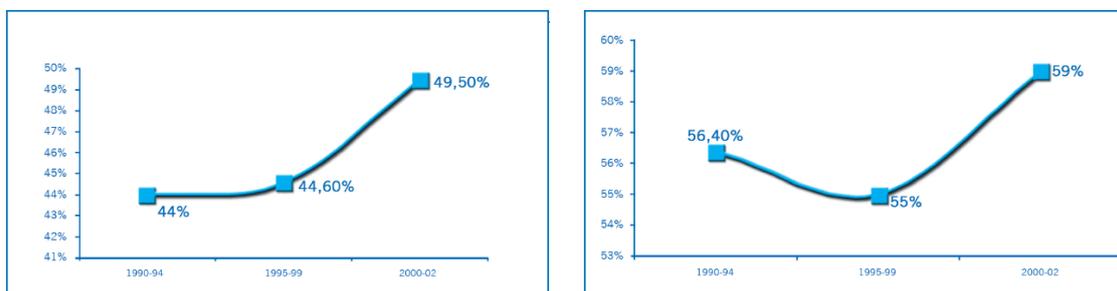


Figura 3. Evolución supervivencia global del cáncer en España (Izquierda varón, derecha mujer).

ETIOLOGÍA

El desarrollo de una neoplasia implica una acumulación de alteraciones que afectan a diversos genes con distintas funciones celulares. Estos cambios celulares pueden ser causadas por dos tipos principales de factores, unos inductores de las alteraciones genéticas iniciadoras (por ejemplo, sustancias mutagénicas tales como radiaciones o agentes químicos) y otras considerados promotores tumorales, cuyo papel consiste en ayudar a la génesis de los procesos tumorales (por ejemplo la inflamación crónica). A pesar de los estudios realizados en este campo en distintos tipos de neoplasias, se conoce poco sobre los mecanismos por los que estos factores contribuyen al desarrollo del cáncer renal⁵.

Aunque los mecanismos propios de la carcinogénesis renal no son conocidos, en la actualidad, se considera que esta enfermedad tiene como base una predisposición genética sobre la que actúan distintos factores ambientales. Entre dichos factores, caben destacar carcinógenos tan conocidos como el tabaco, asbesto, etc. El estudio de los factores de riesgo asociados a esta patología resultará tremendamente útil desde el punto de vista de su prevención.⁶

A continuación se describen someramente los principales factores de riesgo conocidos, toda la información sobre éstos se detalla y esquematiza en la tabla 1.

Tabla 1. Factores de riesgo en el cáncer renal.

| Factores de riesgo | Riesgo relativo de cáncer renal | Número de estudios |
|--|---------------------------------|--------------------|
| Enfermedad de Von Hippel-Lindau | 100 | >5 |
| Diálisis crónica | 32 | >5 |
| Obesidad | 3,6 (2,3-5,7) | >5 |
| Tabaco | 2,3 (1,1-5,1) | >5 |

| | | |
|---|-----------------|----|
| Familiar de primer grado con cáncer renal | 1,6 (1,1-2,4) | >5 |
| Hipertensión arterial | 1,4 (1,2-1,7) | >5 |
| Trabajadores de tintorerías | 1,4 (1,1-1,7) | >5 |
| Uso de diuréticos | 1,3 (1,07-1,5) | >5 |
| Exposición a tricloroetileno | 1 (0,7-9,6) | >5 |
| Radiación terapéutica | 0,8 ; 3,2 ; 8,1 | 3 |
| Uso de fenacetina | 1,1 ; 2,6 ; 6 | 3 |
| Riñón poliquístico | 0,8 ; 2 | 2 |
| Exposición al cadmio | 1 ; 2 ; 3,9 | 3 |
| Exposición al arsénico | 1,6 | 1 |
| Exposición al asbesto | 1,1 ; 1,4 ; 1,8 | 3 |

1. FACTORES AMBIENTALES

Tabaco

Al igual que en otros tumores como el de pulmón o el de colon, algunos autores relacionan el consumo de cigarrillos con un incremento en el riesgo de padecer cáncer de riñón⁷.

Un estudio realizado por el grupo del Dr. McLaughlin, describe que uno de cada cuatro casos de carcinoma renal en los hombres y uno de cada diez en las mujeres, se relacionaba directamente con el consumo de cigarrillos.

En los fumadores habituales existe un incremento del riesgo de cáncer renal del 40%, este riesgo se incrementa con la cantidad y con la duración del hábito tabáquico. Por ejemplo, el riesgo relativo de padecer una neoplasia renal se incrementa de un 1,1 para los fumadores de menos de 16 paquetes al año hasta 2, para aquellos que fuman más de 40 paquetes al año. Los ex-fumadores de más de 15 años experimentan una reducción del riesgo en un 15-25% frente a los fumadores habituales. La edad en la que se inicia el fumador también influye; los paciente que empiezan a fumar tarde (más de 24 años) poseen un riesgo disminuido en dos tercios frente a los que inician el hábito más jóvenes (menores de 12 años).⁸

Obesidad

Según diversos estudios publicados hasta la fecha, la obesidad puede jugar un papel promotor en la oncogénesis renal⁹. Se ha descrito en varios trabajos que existe una relación lineal entre el aumento de peso y el aumento de riesgo de carcinoma renal, principalmente en mujeres^{10,11}. Otro estudio epidemiológico reciente realizado por Shapiro et al, ha relacionado el aumento en el índice de masa corporal con un incremento en el riesgo de desarrollar esta neoplasia, tanto en hombres (riesgo relativo de 2,3) como en mujeres (riesgo relativo de 3,3).¹²

Fármacos

En los últimos 10 años se han presentado evidencias de que el tratamiento con diuréticos se asocia con un incremento en el riesgo de padecer un tumor renal. En una reciente revisión, Grossman et al describen estudios publicados entre 1996 y 1998, en los que se estudia esta relación. Los datos arrojados permiten determinar un riesgo relativo de sufrir un carcinoma renal de 1,55 en pacientes tratados con diuréticos frente a aquellos que no fueron tratados. Otros estudios llegan a la misma conclusión con riesgos que van desde 1,9 a 2,01¹³.

Otros fármacos como el consumo habitual de analgésicos como fenacetina, paracetamol y salicilatos también presentan una cierta asociación con la predisposición a padecer esta neoplasia^{14,15}, sin embargo esta relación es

controvertida ya que otros estudios no encuentran relación ni con la dosis de fármacos consumida, ni con la edad de dicho consumo¹⁶.

Se ha apuntado también, mediante estudios experimentales que existe una asociación entre el consumo de furosemida o hidroclorotiazida con la presencia de adenomas tubulares y adenocarcinomas en ratas, debido principalmente a que estos fármacos actúan directamente sobre el túbulo renal¹⁷.

Dieta

Al igual que sucede en otras patologías neoplásicas, parece que existe una asociación directa entre la cantidad total de energía ingerida en la dieta y el riesgo de desarrollar carcinoma renal.^{18,19}

El consumo de productos lácteos parece incrementar el riesgo de padecer neoplasias renales, como propone el Dr. Mellemggaard en un estudio de casos-control con 351 casos y 340 controles, realizado en Dinamarca. Este hecho, se relaciona también con el hecho de que parece que existe una asociación positiva entre el consumo de proteínas y grasas, así como de sus fuentes de alimento principales (carne, leche, grasas) y el riesgo de carcinoma renal. Sin embargo, tanto para los derivados de la leche como para las grasas y proteínas, no hay una suficiente base epidemiológica que dé credibilidad a dicha asociación.

El efecto protector de las frutas y verduras parece unánime como pasa en otras patologías^{9,20}. Un artículo publicado por el equipo del Dr. Wolk asocia un descenso acusado del riesgo de cáncer renal con el consumo habitual de frutas y verduras.

Existe una gran controversia en relación al consumo de café o alcohol como factor de riesgo. La mayoría de los estudios publicados no demuestran una asociación significativa entre el consumo de alcohol, café o té con el riesgo de carcinoma renal. Al contrario, un reciente estudio muestra una relación inversa entre el consumo de alcohol y el riesgo de padecer cáncer renal²¹.

Hipertensión arterial

Se ha observado una asociación positiva entre el riesgo de cáncer renal y la hipertensión como determina un estudio del Dr. McLaughlin^{17,22}.

Exposición ocupacional

La enfermedad ocupacional, y en concreto la exposición a asbesto (industrias de aislamiento, astilleros...), al cadmio, al hierro, a la gasolina, al tetracloroetileno o a productos derivados del petróleo, aumenta significativamente el riesgo de padecer carcinoma renal^{23,24}. Sin embargo, a diferencia de lo que se podría esperar, parece que la exposición a radiaciones ionizantes no es un factor de riesgo significativo en el desarrollo de carcinomas renales²⁵.

2. FACTORES DE PREDISPOSICIÓN GENÉTICA

Aunque la mayoría de los cánceres renales se presentan de forma esporádica, existen tres tipos hereditarios bien definidos de carcinoma renal: el carcinoma de células claras renales familiar (CCRF), el carcinoma de células renales (CCR) asociado a la enfermedad de Von Hippel-Lindau (VHL) y el carcinoma papilar de células renales hereditario. La presentación de estos carcinomas hereditaria tiene un debut más temprano que el cáncer esporádico y los tumores suelen ser multifocales y bilaterales. Ciertas anomalías en el brazo corto del cromosoma 3 se han asociado con la herencia del CCRF y CCR. Concretamente, la translocación 3p13-3p14 es típica, en el CCRF mientras que en el CCR hereditario, se producen mutaciones en el locus 3p25. La herencia del carcinoma papilar de células renales hereditario, no se asocia con cambios en el cromosoma 3 y actualmente se está investigando sobre las alteraciones que generen su aparición²⁶.

Los pacientes que presentan enfermedad poliquística renal autosómica dominante también presentan un alto riesgo de desarrollar carcinoma renal²⁷.

Según algunos trabajos, enfermedades renales asociadas con insuficiencia renal crónica (como la enfermedad quística renal adquirida y la

esclerosis tuberosa) pueden incrementar el riesgo de padecer neoplasias renales^{28,29}.

CLASIFICACIÓN DE LOS TUMORES RENALES

En las últimas dos décadas, desde la clasificación de la OMS de 1981, la clasificación de las neoplasias renales se ha ido actualizando considerablemente³⁰⁻³³. La actual versión, (OMS en 2004) presenta multitud de diferencias con su antecesora debido principalmente a un mejor conocimiento de las neoplasias renales, de su morfología, pronóstico y características genéticas y moleculares²⁶. Si bien, conocemos la existencia de una nueva clasificación de la OMS, al no encontrarse disponible en el momento actual para la práctica clínica no la hemos tenido en cuenta para la elaboración de esta tesis doctoral, si bien algunos aspectos han sido considerados. A continuación se expone la clasificación histopatológica de la patología neoplásica renal según la clasificación de la WHO 2004. (Tabla 2).

Tabla 2. Clasificación histológica de los tumores renales (WHO, junio 2004).

| TUMORES DE CÉLULAS RENALES | |
|---|---------------------|
| ■Carcinoma de células renales claras | 8310/3 ¹ |
| ■Carcinoma de células renales claras multilocular | 8310/3 |
| ■Carcinoma de células renales papilar | 8260/3 |
| ■Carcinoma de células renales cromóforo | 8317/3 |
| ■Carcinoma de los conductos colectores de Bellini | 8319/3 |
| ■Carcinoma renal medular | 8319/3 |
| ■Carcinoma con translocación Xp11 | |
| ■Carcinoma asociado con neuroblastoma | |
| ■Carcinoma mucinoso tubular y de células fusiformes | |

| | |
|----------------------------------|------------------------------------|
| ■Carcinoma inclasificable | 8312/3 |
| ■Adenoma papilar | 8260/0 |
| ■Oncocitoma | 8290/0 |
| TUMORES METANÉFRICOS | |
| ■Adenoma metanéfrico | 8325/0 |
| ■Adenofibroma metanéfrico | 9013/0 |
| ■Tumor estromal metanéfrico | 8935/1 |
| TUMORES NEFROBLÁSTICOS | |
| ■Restos nefrogénicos | |
| ■Nefroblastoma | 8960/3 |
| -Nefroblastoma diferenciado | quístico parcialmente 8959/1 |
| TUMORES MESENQUIMALES | |
| ■Principalmente infantiles | |
| -Sarcoma de células claras | 9044/3 |
| -Tumor rabdoide | 8963/3 |
| -nefroma mesoblástico congénico | 8960/1 |
| -tumor renal osificante infantil | 8967/0 |
| ■Principalmente de adultos | |
| -Leiomioma | 8890/3 |
| -Angiosarcoma | 9120/3 |
| -Rabdomiosarcoma | 8900/3 |
| -Histiocitoma fibroso maligno | 8830/3 |
| -Hemangiopericitoma | 9150/1 |
| -Osteosarcoma | 9180/3 |
| -Angiomiolipoma | 8860/0 |
| Angiomiolipoma epiteliode | |
| -Leiomioma | 8890/0 |

| | |
|---|--------|
| -Hemangioma | 9120/0 |
| -Linfangioma | 9170/0 |
| -Tumor de células yuxtaglomerulares | 8361/0 |
| -Tumor de células intersticiales renomedular | 8966/0 |
| -Schwannoma | 9560/0 |
| -Tumor fibroso solitario | 8815/0 |
| TUMORES MIXTOS | |
| ■Nefroma quístico | 8959/0 |
| ■Tumor mixto epitelial y estromal | |
| ■Sarcoma sinovial | 9040/3 |
| TUMORES NEUROENDOCRINOS | |
| ■Carcinoide | 8240/3 |
| ■Carcinoma neuroendocrino | 8246/3 |
| ■Tumor neuroectodérmico primitivo | 9364/3 |
| ■Neuroblastoma | 9500/3 |
| ■Feocromocitoma | 8700/0 |
| TUMORES LINFOIDES Y HEMATOPOYÉTICOS | |
| ■Linfoma | |
| ■Leucemia | |
| ■Plasmocitoma | 9731/3 |
| TUMORES DE CÉLULAS GERMINALES | |
| ■Teratoma | 9080/1 |
| ■Coriocarcinoma | 9100/3 |
| TUMORES METASTÁSICOS | |

¹-Código International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) (808) y de la nomenclatura sistematizada de medicina (<http://snomed.org>). El comportamiento es codificado /0 para tumores benignos; /3 para tumores malignos; /1 comportamiento borderline o incierto.

En los siguientes apartados se realizará un somero resumen de las características más destacadas de cada una de las principales diferenciaciones de las neoplasias renales.

1. TUMORES DE CÉLULAS RENALES

El carcinoma renal es la lesión sólida más frecuente en el riñón y representa aproximadamente el 90% de todos los tumores renales malignos. Engloba diferentes tipos de tumores con características histopatológicas y genéticas específicas³⁰.

El carcinoma renal representa el 2%-3% de todos los cánceres³⁴ y se da una mayor incidencia en los países occidentales. Hay un predominio 1,5:1 de los varones sobre las mujeres y principalmente se diagnostica entre los 60 y 70 años de edad.

En general, durante las dos últimas décadas se ha producido un incremento anual próximo al 2% en la incidencia^{35,36}. La mortalidad global en Europa, aumentó hasta principios de los noventa, con una estabilización y disminución progresiva a partir de entonces².

1.1 CARCINOMA RENAL DE CELULAS CLARAS (convencional)

El carcinoma renal de células claras (CCRCC), también conocido como hipernefoma o tumor de Grawitz (términos en desuso) es el tipo más común de carcinoma renal, correspondiendo aproximadamente al 75% de todas las neoplasias epiteliales renales. Este grupo engloba el carcinoma convencional de células claras y la antigua variante con células granulares^{37,38}.

Hallazgos macroscópicos: Son lesiones usualmente solitarias y unilaterales, que ocupan primariamente la corteza, pero al crecer terminan invadiendo también la médula y el tejido perirrenal. Macroscópicamente el tumor tiene un aspecto muy variable con áreas amarillas o parduzcas y zonas pálidas, se observan con bastante frecuencia cambios quísticos, necrosis y hemorragia. Los espacios quísticos suelen estar llenos de material gelatinoso translúcido, también se distinguen áreas fibrosas y de aspecto hialino. Cuando hay zonas anaplásicas o sarcomatoides el aspecto es más sólido y puede ser blanquecino como "carne de pescado" (figura 4).



Figura 4. Imagen macroscópica de un Carcinoma de células renales de tipo convencional de células claras.

Hallazgos microscópicos: La principal característica de estos tumores es una población sólida de células claras con membrana citoplasmática bien definida. El aspecto claro del citoplasma se debe a la presencia de glucógeno y lípidos. El patrón de distribución de las células es muy variable entre tumores y en diferentes áreas del mismo tumor; se pueden observar disposiciones alveolares, trabeculares, sólidas, tubulares o microquísticas. El estroma intratumoral contiene numerosos vasos sanguíneos de pared delgada, esta rica red vascular es una característica importante en el diagnóstico ya que los otros subtipos de tumores renales no suelen presentar esta característica. Los espacios formados por las lesiones tubulares y microquísticas pueden contener material seroso eosinofílico o sanguinolento. Es frecuente encontrar necrosis y áreas de hemorragia, sin que este hallazgo tenga asociación demostrada con el pronóstico^{39,40} (figura 5).

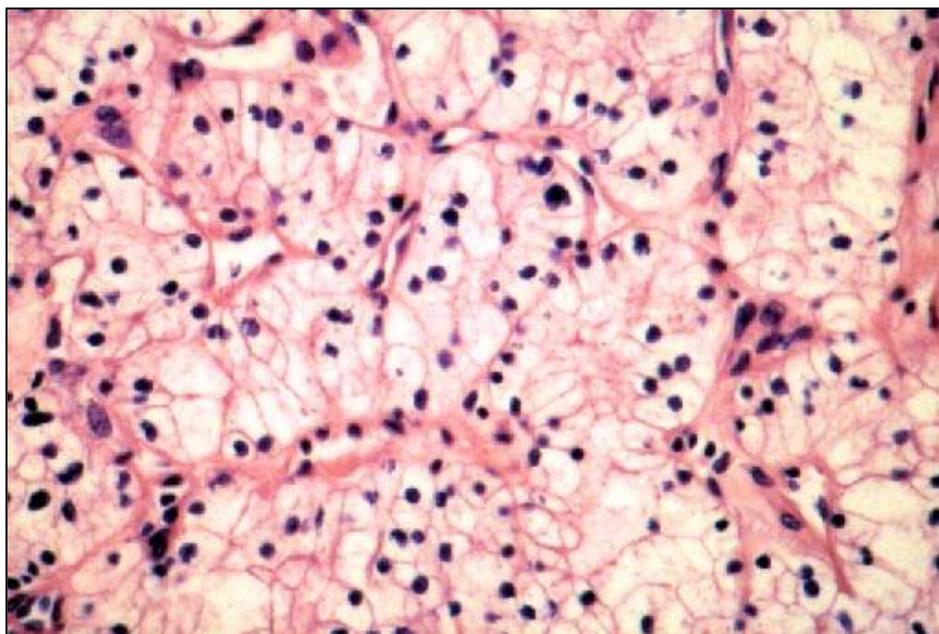


Figura 5. Imagen microscópica de un Carcinoma de células renales convencional de células claras. H&E. Aumentos originales 40x.

Las células pueden contener en su citoplasma glóbulos hialinos o hemosiderina. En la escala de Fuhrman, relacionada con la agresividad biológica tumoral, predominan los tumores de grado 2 ó 3; pudiéndose encontrar en algunos casos grado 4 (5-10%) y grado 1 (menos del 10%). La actividad mitótica es escasa y se correlaciona con el grado nuclear; es excepcional ver mitosis en tumores grado 1 y 2, siendo más frecuentes en las lesiones grado 3 y muy fáciles de encontrar en las lesiones grado 4.

La aparición de áreas focales de aspecto papilar, genera discrepancia en cuanto a su clasificación, ya que algunos autores defienden que cualquier lesión papilar con células claras debe llamarse carcinoma de células claras mientras que otros especialistas consideran el porcentaje de morfología papilar como un aspecto crucial en el diagnóstico (>50% ó >75% con aspecto papilar sería carcinoma papilar, así tenga o no células claras).

La diferenciación sarcomatoide, que se observa en aproximadamente un 10% de CCR convencionales, maligniza su pronóstico. La cuantificación del porcentaje de tumor con áreas sarcomatoides es crucial; si ésta es mayor del 50% el pronóstico es significativamente peor que si el área con diferenciación sarcomatoide es más baja (10%) (figura 6)^{41,42}.

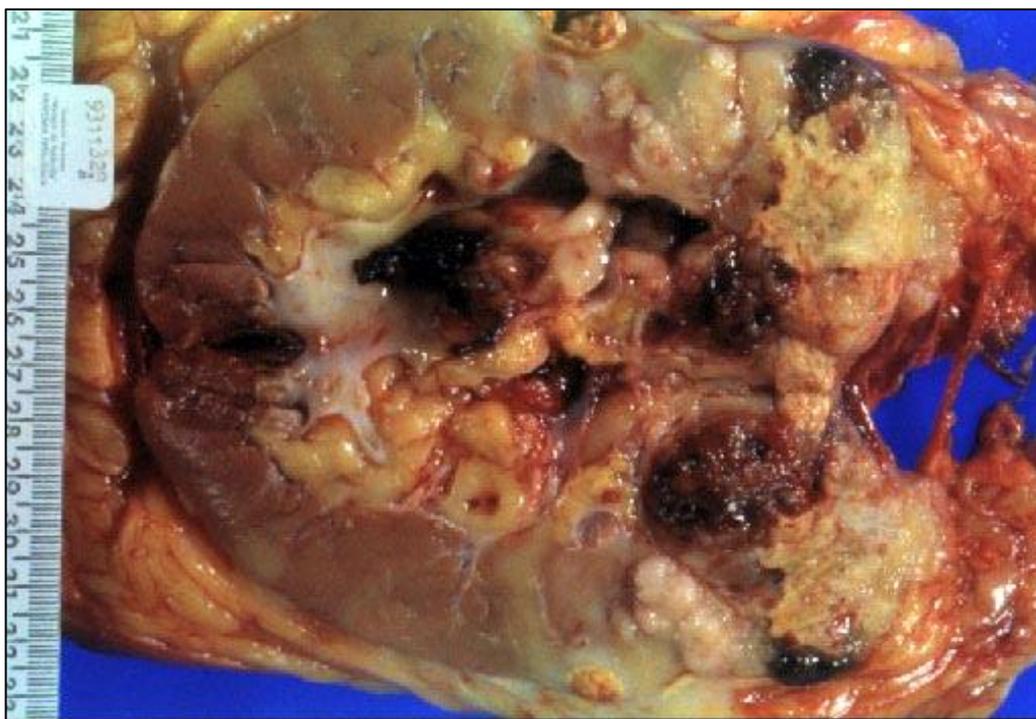


Figura 6. Imagen macroscópica de un Carcinoma de células renales de tipo sarcomatoide. Las áreas más blanquecinas con aspecto en “carne de pescado” son las de diferenciación sarcomatoide.

En algunos casos aislados se dan características citológicas "rabdoides": células grandes con núcleo excéntrico y citoplasma con material eosinofílico vagamente nodular; esta característica también se correlaciona con peor pronóstico en cualquiera de los CCR.

Mediante la utilización de métodos histoquímicos e inmunohistoquímicos (IHQ) se demuestra que los CCR convencionales tienen diferenciación de epitelio del túbulo proximal. No hay tinción citoplasmática con la técnica de hierro coloidal de Hale (sí en CCR cromóforo), existe expresión de citoqueratinas (CK), antígeno de membrana epitelial (EMA), vimentina, CK de bajo peso molecular, CK 8, CK 18, CK 19, antígeno del CCR (RCC), CD10, MUC1 y MUC3. Sin embargo estos tumores no presentan inmunomarcaje, en la mayoría de casos, para inhibina y A103 (positivos en carcinoma adrenal) y para CK7 (suele ser positiva en cromóforos)^{26,43}.

La variante granular del CCR convencional puede confundirse con otros tumores de células granulares como el oncocitoma, un muestreo extenso demostrará áreas de células claras. En casos de CCR asociados con la

translocación Xp11, el aspecto suele ser más irregular, a veces papilar, con microcalcificaciones y presenta un debut más temprano. No obstante, generalmente se necesitará la ayuda de técnicas moleculares, como inmunohistoquímica, para detectar positividad nuclear para TFE3⁴⁴.

1.2. CARCINOMA PAPILAR DE CÉLULAS RENALES

Esta morfología de neoplasia renal corresponde al 10-15% de todos los CCR resecaados en adultos. Se generan de manera bilateral con mayor frecuencia que el convencional y son multifocales en hasta el 30% de casos. Por angiografía la mayoría son hipovasculares. El carcinoma papilar de células renales es el tipo de tumor más frecuente en pacientes con enfermedad renal terminal y en pacientes con enfermedad renal quística asociada a la diálisis. El pronóstico del carcinoma papilar es mejor que el del convencional, con menor tasa de metástasis y muerte debido al tumor, sin embargo, hay casos con comportamiento agresivo y casos con transformación sarcomatoide.

Hallazgos macroscópicos: Estos tumores suelen estar bien definidos, con límites definidos y, en muchos casos, rodeados por una delgada pseudocápsula fibrosa de tejido circundante, poseen generalmente áreas friables que se fragmentan con facilidad. Presentan coloración marronácea, amarillenta o rojiza y con frecuencia se observan áreas de aspecto necrótico y/o hemorrágico. El tamaño es muy variable, al igual que en los otros CCR. En la actualidad se consideran benignos (adenomas) las lesiones menores de 0,5 cm^{45,46} (figura 7).

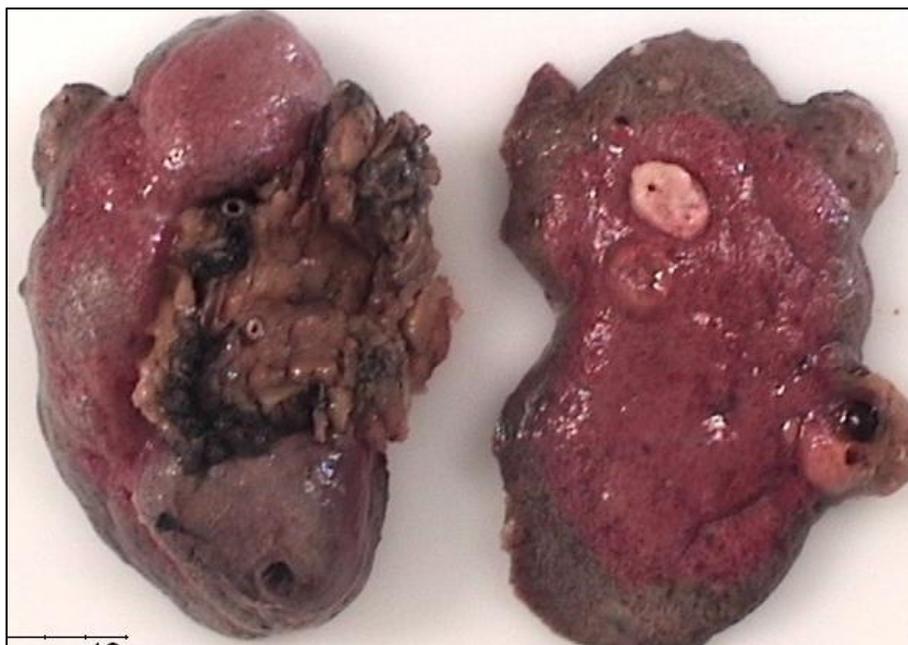


Figura 7. Imagen macroscópica de un Carcinoma papilar multifocal.

Hallazgos microscópicos: El patrón morfológico predominante es el papilar o tubulopapilar, en zonas con crecimiento más compacto se ven de aspecto sólido o trabecular. La hialinización de los tallos puede generar un aspecto esclerótico de las papilas. Es muy frecuente encontrar acúmulos de histiocitos espumosos en los tallos fibrovasculares de las papilas y focos de infiltrado inflamatorios linfocítico y de polimorfonucleares; muchos casos también presentan cuerpos de psamoma. Hay CCR papilares predominantemente sólidos, con muy pocas papilas; estos casos pueden ser difíciles de diagnosticar; y por tanto, es muy importante un extenso muestreo del tumor para ver áreas papilares, tubulares o tubulopapilares.

Se han reconocido dos tipos de CCR papilares: Tipo 1, formado por células cúbicas con citoplasma más basófilo, núcleos pequeños y redondos y nucléolo oculto que presentan una alta relación núcleo/citoplasma. Este subtipo histológico se asocia a un ligero mejor pronóstico. El Tipo 2 se caracteriza por tener células más grandes, con citoplasma más alto (o cilíndrico) núcleo más grande, muchos de ellos con nucléolo visible o prominente, y citoplasma eosinófilo. Algunos autores plantean que el tipo 2 es simplemente un carcinoma papilar de más alto grado. Existen también carcinomas que presentan características mixtas entre estos dos tipos, como se aprecia en las figuras 8 y 9.

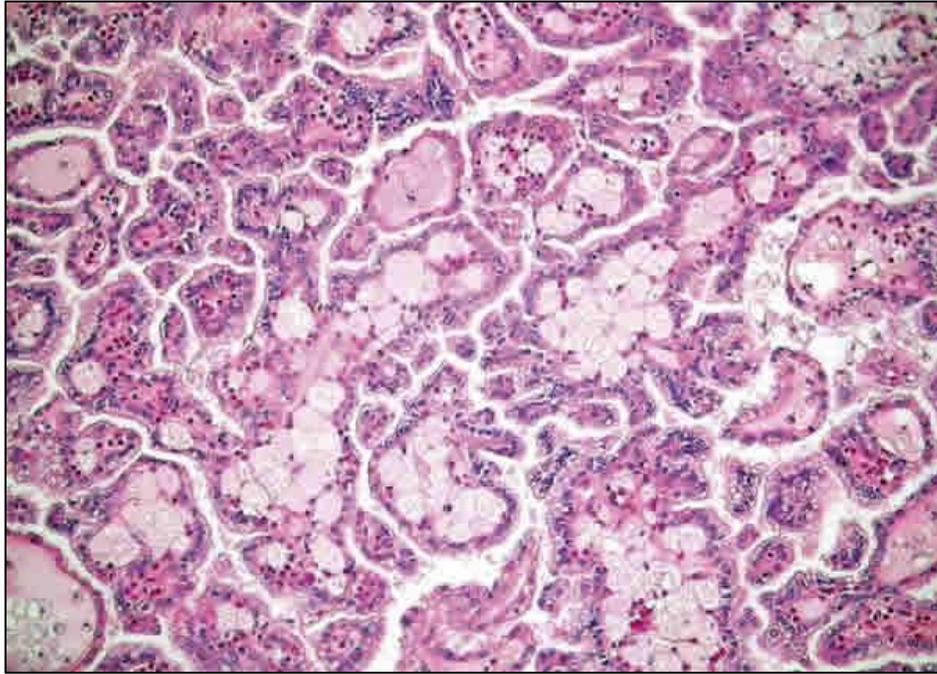


Figura 8. Imagen microscópica de un Carcinoma papilar parenquimatoso renal de tipo 1 con numerosos macrófagos espumosos en los tallos de las papilas. H&E. Aumentos originales 10x.

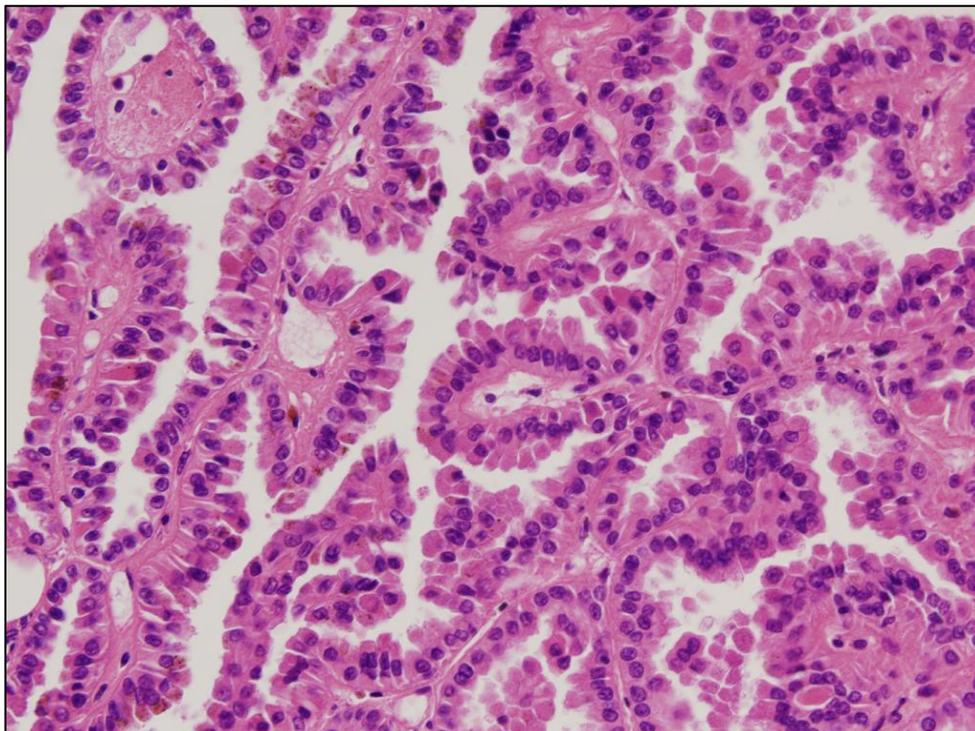


Figura 9. Imagen microscópica de un Carcinoma papilar parenquimatoso tipo 2. Las células presentan mayor grado de atipia y pleomorfismo. H&E. Aumentos originales 40x.

Algunos CCR papilares contienen células claras, pero esta morfología no debe ser extensa, de lo contrario debemos pensar en un CCR convencional. Estos tumores no son positivos con la técnica del hierro coloidal de Hale y contienen muy poco glucógeno. El grado nuclear en los carcinomas papilares suele ser establecerse entre 1 ó 2, aunque existen casos con alto grado. De entre los CCR papilares un 3-4% puede presentar transformación sarcomatoide⁴⁷⁻⁵⁰.

1.3. CARCINOMA CROMÓFOBO DE CÉLULAS RENALES

Esta variante de CCR fue descrita en 1985⁵¹, algunos autores consideran que surge de las células intercaladas de conductos colectores y que es la pareja maligna del oncocitoma. Corresponden a este subtipo tumoral aproximadamente el 5% de tumores epiteliales renales de adultos, no tienen diferenciación por sexos y suele debutar en edades similares a las del CCR de células claras. Se ha descrito que poseen un mejor pronóstico que el carcinoma convencional de similar grado y estadiaje.

Hallazgos macroscópicos: Son tumores bien circunscritos, solitarios y corticales, de aspecto homogéneo y color marrón o café. Como hallazgo interesante, y muy importante en el diagnóstico diferencial con oncocitoma, en el 10-15% de casos se ve un área central de aspecto cicatricial (más común en oncocitomas) (figura 10).



Figura 10.Imagen macroscópica de un Carcinoma cromófono.

Hallazgos microscópicos: Se han descrito dos variantes una clásica y una eosinofílica. La variante clásica es la más común, se caracteriza por células con citoplasma abundante, pálido, con aspecto reticular o granular, halo claro perinuclear y una zona periférica más densa de condensación citoplasmática adyacente a la membrana celular; el aspecto recuerda células vegetales. Los núcleos suelen ser centrales y poseen nucléolos variables de tamaño. En algunas zonas las células se disponen simulando capas, con las más pequeñas y eosinofílicas hacia un extremo y las más grandes y claras hacia la periferia. La variante eosinofílica contiene células con citoplasma granular eosinofílico, a menudo con halo perinuclear (que no suele verse en oncocitomas) y un aspecto muy similar al del oncocitoma; en general, encontramos áreas focales con el patrón clásico, lo que facilita el diagnóstico (figura 11).

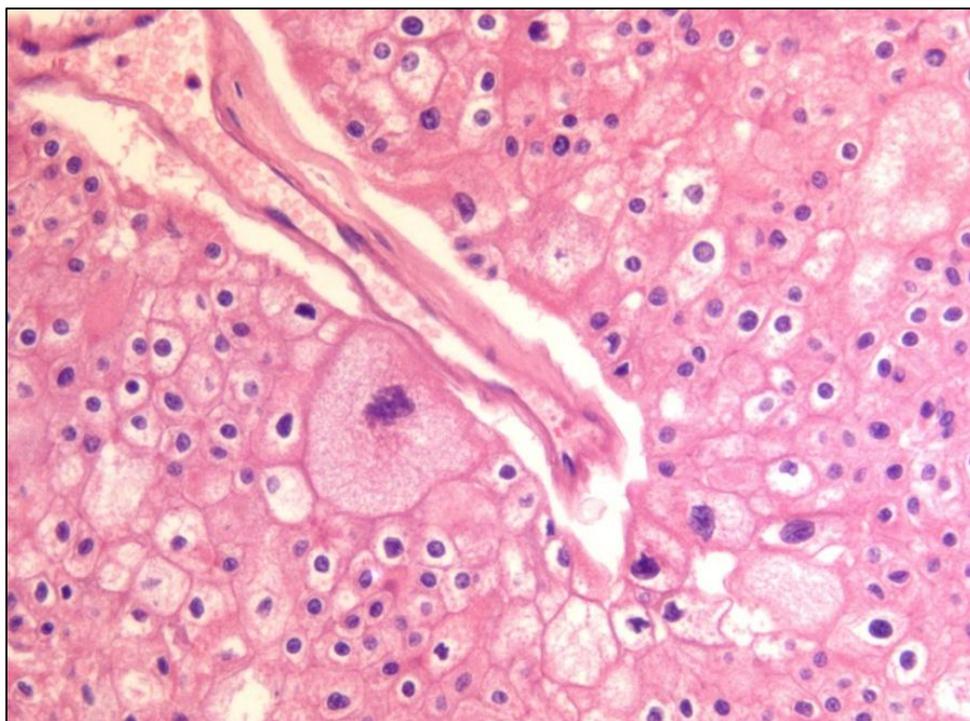


Figura 11. Imagen microscópica de un carcinoma cromóforo. Nótese el aspecto “vegetal” de las células con halos claros perinucleares. H&E. Aumentos originales 40x.

Con frecuencia se identifican núcleos grandes, hipercromáticos, irregulares y retraídos, sin nucléolo prominente, por lo que podrían corresponder, más que a núcleos de alto grado, a cambios degenerativos; este cambio nuclear es muy sugerente de cromóforo (no se ve en carcinomas convencionales, pero también es frecuente en oncocitomas). Hay bajo índice de actividad mitótica^{52,53}.

La arquitectura de estos tumores suele ser sólida, sin la prominente red vascular del CCR convencional. Hay transformación sarcomatoide en el 5-25% de casos, de acuerdo a diferentes series.

Mediante histoquímica el hallazgo más relevante es la positividad citoplasmática intensa y difusa para la técnica de hierro coloidal de Hale. Este hallazgo es muy importante en el diagnóstico diferencial con carcinomas convencionales (negativos) y con oncocitomas (negativos o con positividad débil y focal). Los carcinomas papilares presentan expresión por inmunohistoquímica para panCK, CK7, lecitina y, parvalbúmina. La inmunotinción para vimentina y para CD10 es generalmente negativa (al contrario que en carcinomas convencionales)⁵⁴ (figura 12).

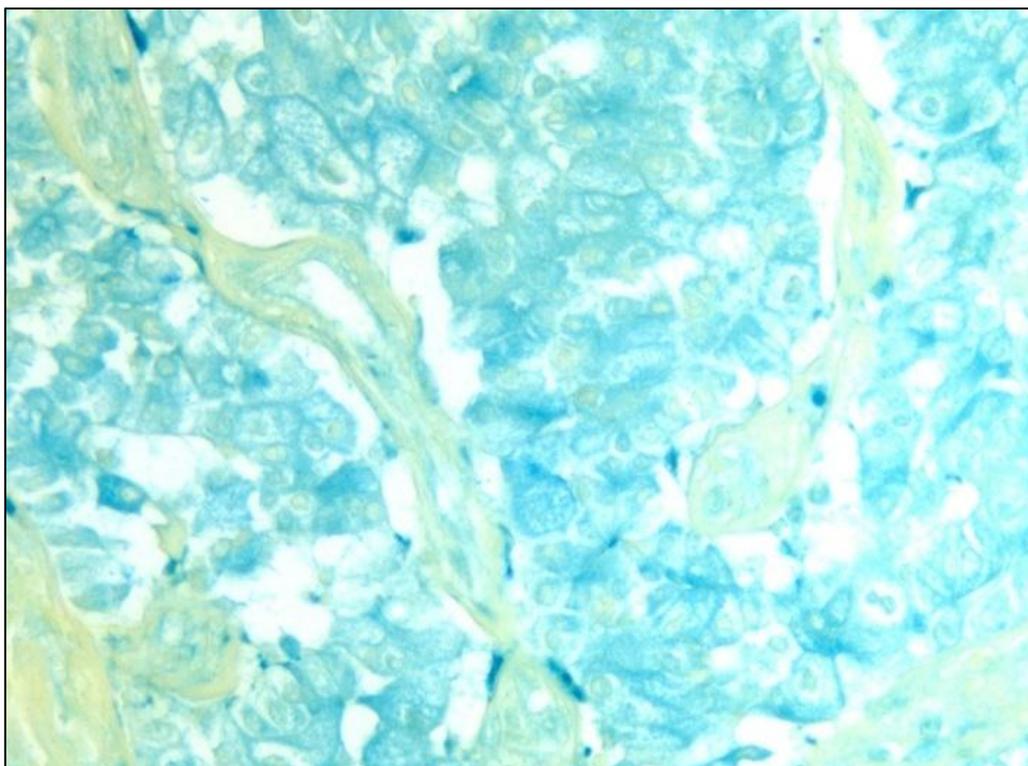


Figura 12. Tumor positivo para Hierro Coloidal.

Por microscopía electrónica hay numerosas microvesículas que son características, sin embargo, en la variante eosinofílica hay también abundantes mitocondrias, lo que dificulta el diagnóstico diferencial con oncocitomas^{55,56}.

1.4. ONCOCITOMA

Los oncocitomas renales constituyen aproximadamente del 6 al 9% de todas las neoplasias corticales renales³⁷. Se trata de neoplasias benignas que deben distinguirse de otras neoplasias epiteliales renales, aunque se han descrito casos raros y dudosos con metástasis, no se conocen ningún fallecimiento por la enfermedad. La distinción respecto a la variante eosinofílica del CCR cromóforo puede ser especialmente difícil.

Hallazgos macroscópicos: El aspecto de estos tumores suele ser el de masas bien circunscritas, encapsuladas, de tamaños variables entre 0,3 y 20 cm sin extensión hacia el tejido adiposo perirrenal o hacia la vena renal. El color es marrón caoba, y no suele mostrar zonas de necrosis o hemorragia, circunstancias éstas que de producirse nos harían pensar en un carcinoma de

células renales. Clásicamente, se suele representar el oncocitoma con una cicatriz estrellada de situación central como se aprecia en la figura 13.

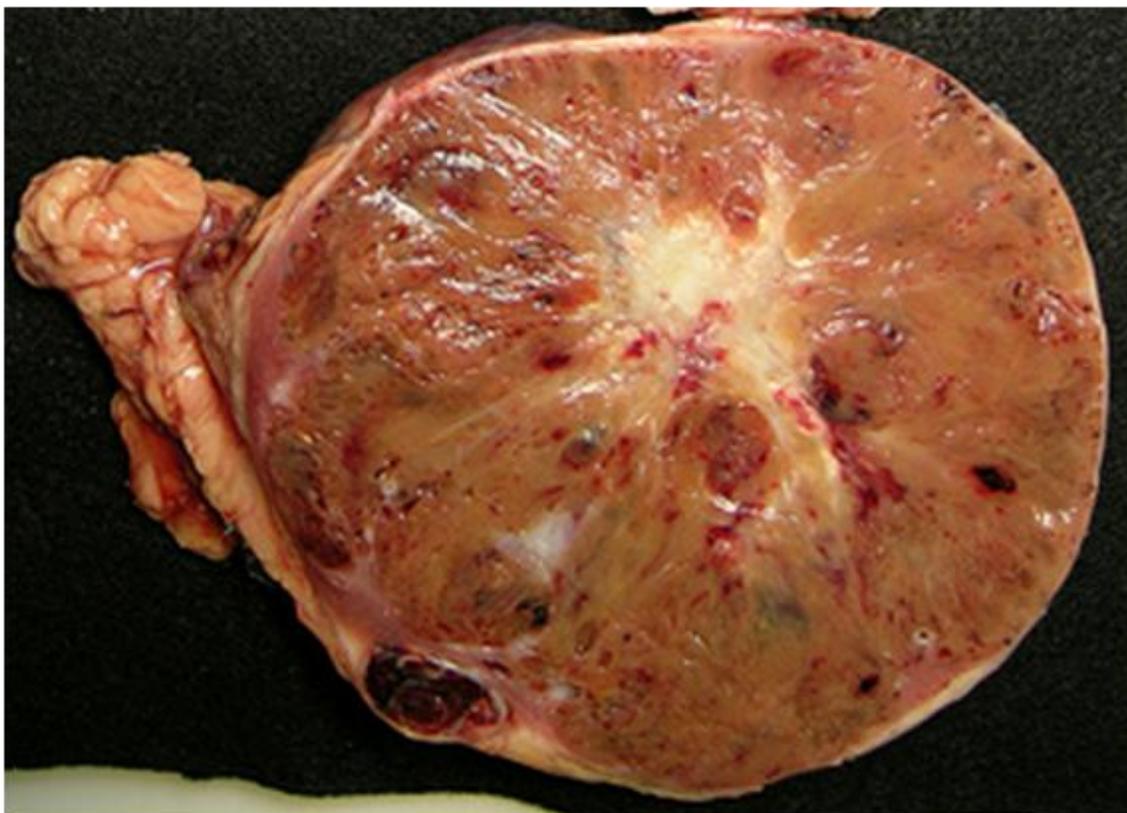


Figura 13. Imagen macroscópica de un Oncocitoma renal. Destaca la cicatriz central y el color marrón caoba.

En cuanto a la incidencia de muticentralidad se estima entre un 10% y un 14%, mientras que la bilateralidad se calcula entre un 4% y un 18%^{57,58}

Hallazgos microscópicos: los oncocitomas se caracterizan por células con citoplasma intensamente eosinófilo, dispuestas en nidos, cordones o túbulos, y con núcleos uniformemente redondos y vesiculares, a menudo con nucléolos centrales prominentes^{59,60}.

La uniformidad de los núcleos es la regla, aunque algunas células aisladas o grupo de células pueden mostrar hipercromasia y pleomorfismo de aspecto degenerativo. El crecimiento papilar y la necrosis tumoral extensa no son característicos del oncocitoma renal. Tampoco se suele observar actividad mitótica. Se ha considerado típica una cicatriz central estrellada; sin embargo este tipo de cicatrices pueden aparecer también en otras neoplasias corticales renales de bajo grado. La cicatriz puede contener algunas células tumorales

atrapadas que muestran focalmente aclaramiento del citoplasma. Aparte de en esta situación, las células claras no son un rasgo típico del oncocitoma renal. Las células del tumor pueden infiltrar los tejidos blandos perirrenales y ocasionalmente pueden estar presentes dentro de vasos pequeños e incluso grandes. Ninguno de estos hallazgos afecta a su comportamiento clínico benigno (figura 14).

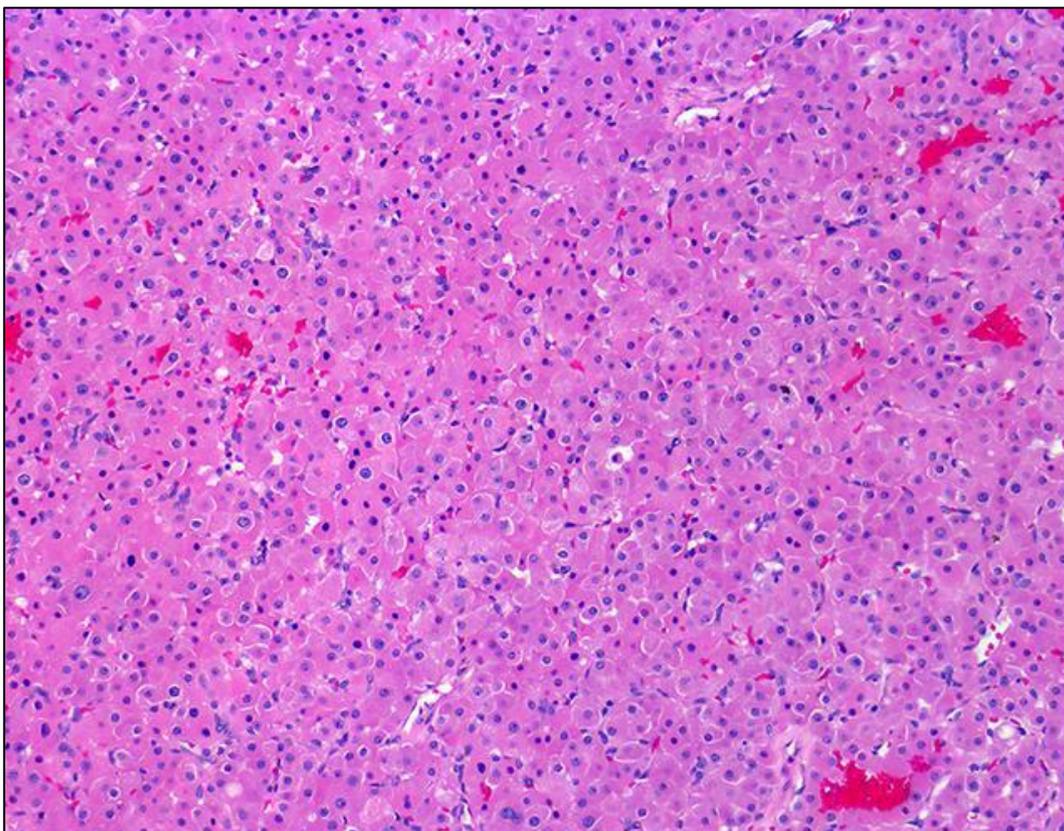


Figura 14. Imagen microscópica de un oncocitoma renal. Ausencia de atipia y aspecto eosinófilo homogéneo. H&E. Aumentos originales 10x.

El microscopio electrónico revela un citoplasma repleto de mitocondrias, que son las responsables de la eosinofilia citoplasmática y del aspecto macroscópico de color caoba^{61,62}.

Recientemente, se han descrito una nueva patología consistente en la presencia de múltiples lesiones oncocíticas (oncocitosis⁶³). Entre las características morfológicas típicas del oncocitomas, algunos casos presentaban una morfología híbrida entre oncocitomas y CCR cromófobos, lo que sugiere que estos tumores podrían estar relacionados genética o

etiológicamente. De hecho, se ha propuesto la hipótesis de que los tumores cromófobos podrían representar una progresión del oncocitoma.

ESTADIFICACIÓN

El estadio tumoral, refleja la diseminación anatómica y la intensidad de afectación por la enfermedad, representa el factor pronóstico más importante para determinar el comportamiento clínico y la evolución del carcinoma renal⁶⁴. El primer sistema formal de estadificación fue propuesto por Flocks y Kadesky en 1958⁶⁵, y estuvo fundamentado tanto en las características físicas del tumor como en la localización de la diseminación tumoral. Posteriormente, Robson y cols.⁶⁶ modificaron estos criterios en 1969 al proponer que la estadificación también debería considerar la infiltración vascular. En la actualidad, se utilizan varios sistemas de estadificación. Los más habituales son la clasificación de Robson (tabla 3) y el sistema de estadificación tumor-ganglios-metástasis (TNM) propuesta por la UICC (Union International Cancer Control). Inicialmente fue muy utilizado el sistema de estadificación de Robson; sin embargo, posteriormente se demostró que no presentaba una correlación buena con el pronóstico⁶⁷ y por tanto está quedando en desuso.

Tabla 3. Sistema de estadificación de Robson en el carcinoma renal.

| | |
|---------------------|---|
| Estadio I | Tumor confinado por la cápsula renal. |
| Estadio II | Extensión al tejido adiposo perirrenal o a la glándula suprarrenal ipsilateral, pero sin atravesar la fascia de Gerota. |
| Estadio IIIa | Afectación tumoral de la vena renal o de la vena cava inferior. |
| Estadio IIIb | Afectación linfática. |
| Estadio IIIc | Afectación venosa y linfática. |
| Estadio IVa | Diseminación a órganos contiguos, excepto la glándula suprarrenal ipsilateral. |
| Estadio IVb | Metástasis distantes. |

El sistema TNM se caracteriza por su consideración sistemática del crecimiento local, la diseminación ganglionar y las metástasis distantes; por tanto, este sistema permite una clasificación más precisa de la intensidad de la afectación tumoral⁶⁸. El sistema de estadificación TNM fue considerado inicialmente demasiado complejo en comparación con el sistema de Robson, con un número excesivo de categorías de estadificación; sin embargo, posteriormente fue refinado y simplificado (tabla 4). Con estos cambios, el sistema TNM es considerado en la actualidad un indicador pronóstico significativo que se correlaciona significativamente con la supervivencia y con los períodos libres de enfermedad en todas sus categorías de estadio⁶⁹.

En general, el sistema TNM de clasificación se recomienda para uso clínico y científico⁷⁰. Sin embargo, la clasificación TNM está continuamente mejorando para adaptarse de la mejor manera posible a la realidad de la patología⁷¹.

Tabla 4. Sistema de clasificación TNM 2009⁷².

| | |
|----------|--|
| T | TUMOR PRIMARIO |
| TX | No se puede evaluar el tumor primario |
| T0 | Ausencia de datos de tumor primario |
| T1 | Tumor ≤ 7 cm en su dimensión máxima, limitado al riñón |
| T1a | Tumor ≤ 4 cm en su dimensión máxima, limitado al riñón |
| T1b | Tumor > 4 cm pero ≤ 7 cm en su dimensión máxima |
| T2 | Tumor > 7 cm en su dimensión máxima, limitado al riñón |
| T2a | Tumor > 7 cm pero ≤ 10 cm en su dimensión máxima |
| T2b | Tumor > 10 cm limitado al riñón |
| T3 | El tumor se extiende a venas importantes o invade directamente las glándulas suprarrenales o los tejidos perirrenales, pero no la glándula suprarrenal ipsilateral ni sobrepasa la fascia de Gerota |
| T3a | El tumor se extiende macroscópicamente a la vena renal o sus ramas segmentarias (con músculo) o el tumor invade la grasa perirrenal o del seno renal (peripélvica) pero no sobrepasa la fascia de Gerota |
| T3b | El tumor se extiende macroscópicamente a la vena cava por debajo del diafragma |
| T3c | El tumor se extiende macroscópicamente a la vena cava por encima de diafragma o invade la pared de la vena cava |
| T4 | El tumor invade sobrepasando la fascia de Gerota (incluida la extensión por contigüidad a la glándula suprarrenal ipsilateral) |
| N | GÁNGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES |
| NX | No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales |

| | | | |
|-----------------------------------|--|--------------------|-----------|
| N0 | Ausencia de metástasis ganglionares regionales | | |
| N1 | Metástasis en un solo ganglio linfático regional | | |
| N2 | Metástasis en más de un ganglio linfático regional | | |
| M | METÁSTASIS A DISTANCIA | | |
| M0 | Ausencia de metástasis a distancia | | |
| M1 | Metástasis a distancia | | |
| AGRUPACIÓN EN ESTADIOS TNM | | | |
| Estadio I | T1 | N0 | M0 |
| Estadio II | T2 | N0 | M0 |
| Estadio III | T3 | N0 | M0 |
| | T1,T2,T3 | N1 | M0 |
| Estadio IV | T4 | Cualquier T | M0 |
| | Cualquier T | N2 | M0 |
| | Cualquier T | Cualquier T | M1 |

Además del estadiaje, se debe determinar el grado de Fuhrman en todos los carcinomas de células renales, un grado exclusivamente nuclear que ha demostrado muy buena correlación con el pronóstico⁷³. La graduación se hace de acuerdo con el área de mayor grado nuclear (tabla 5).

Tabla 5. Clasificación de Fuhrman.

| GRADO NUCLEAR DE FUHRMAN | |
|--------------------------|---|
| GRADO 1 | Núcleos redondos, uniformes (aprox. 10 micras); nucléolos no visibles o inconspicuos a 400X |
| GRADO 2 | Núcleos más grandes (aprox. 15 micras) con contornos irregulares; se ven pequeños nucléolos a 400X |
| GRADO 3 | Núcleos más grandes (aprox. 20 micras) con contornos más irregulares; nucléolos prominentes a 100X |
| GRADO 4 | Características del grado 3 más núcleos pleomórficos o multilobulados, con o sin células fusiformes (sarcomatoides) |

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

SIGNOS Y SÍNTOMAS LOCALES

Los síntomas iniciales son normalmente consecuencia de la invasión local, como la hematuria, el dolor y la presencia de masa tumoral. Esta triada clásica de Guyon, informa de gravedad avanzada y se presenta en un escaso porcentaje de pacientes (4% al 11%)^{74,75}.

Hematuria: suele aparecer cuando el tumor ha alcanzado un apreciable tamaño y sólo será visible en tumores pequeños, cuando éstos se localicen en las porciones centrales del riñón. Su frecuencia oscila entre un 22 y un 60% de los pacientes⁷⁵. Este porcentaje de pacientes con cáncer renal que se presenta con hematuria, está disminuyendo, conforme el diagnóstico de este tumor se realiza de forma accidental.

Dolor en flanco: como síntoma inicial, el dolor local se presenta entre un 15 y un 20% de los casos⁷⁶. Este dolor, está causado por la irritación de la cápsula renal y suele ser continuo y no muy intenso, conforme el tumor aumenta de tamaño; con el incremento de volumen, el tumor puede invadir los músculos psoas y cuadrante lumbar; produciendo dolor lumbar severo, que se

exacerba con el ascenso del miembro inferior ipsilateral. También puede ser de tipo cólico, por coágulos o más raramente por compresión ureteral.

Masa abdominal: dada la situación protegida de los riñones por la parrilla costal, dentro de la cavidad abdominal, no es frecuente que el cáncer renal se presente como masa abdominal palpable, salvo si existen grandes masas tumorales o si se trata de pacientes delgados y niños.

Varicocele: es característico que el varicocele que se produce en el contexto de un cáncer renal, no se descomprima al adoptar el paciente la posición decúbito. El varicocele se produce por la invasión del tumor de la vena renal, lo que provoca la obstrucción relativa de la vena espermática izquierda.

Dolor abdominal agudo: la posible aparición de una hemorragia en el interior del tumor renal, puede producir un hematoma parafrénico y provocar dolor abdominal agudo.

Síndrome de Wunderlich: la triada de dolor lumbar, masa en flanco y shock hipovolémico, puede ser la presentación de un tumor renal por rotura y/o hemorragia tumoral.

Síntomas gastrointestinales inespecíficos: en otras ocasiones el paciente refiere saciedad precoz, náuseas y malestar abdominal difuso.

MANIFESTACIONES SISTÉMICAS

Una de las características que cabe destacar de los tumores renales, es la producción de síndromes paraneoplásicos cuyo diagnóstico es importante porque pueden preceder a la patología tumoral metastásica. Permiten valorar el efecto terapéutico y nos avisan, de una recidiva tumoral, lo que ha llevado a utilizar a algunos de estos síndromes paraneoplásicos, como marcadores tumorales o factores pronósticos^{77,78}.

Entre los más destacados cabe citar los siguientes:

Hipertensión arterial: aparece hasta en el 40% de los casos de las distintas series publicadas, y se produce por hipersecreción de renina, existencia de fístulas arteriovenosas intratumorales, policitemia, hipercalcemia

o aumento de la presión intracraneal por la existencia de metástasis intracraneales.

Poliglobulia: descrita por primera vez por Medvei (1934)⁷⁹, puede darse en el 3-14% de los pacientes⁸⁰ y se produce por hipersecreción de eritropoyetina; siendo característico la desaparición de la misma tras el tratamiento quirúrgico de la neoplasia.

Anemia: es una de las manifestaciones sistémicas más frecuentes del cáncer renal, entre el 20 y el 30 % de los pacientes padecen anemia ferropénica en el momento de la presentación inicial del tumor. Dicha anemia se genera principalmente por la alteración medular secundaria a la acción de sustancias tóxicas secretadas por el tumor,⁸¹ y se asocia, con una disminución de la capacidad de fijación del hierro sérico. Puede agravarse con la hematuria y sangrado intratumoral. Este hecho se ha descrito como un factor pronóstico adverso, si la hemoglobina es menos de 10 g/dl en la mujer, o menor de 12 g/dl en el varón⁸².

Fiebre: en porcentaje variable según el estudio (17% a 56%). Se produce por reacción ante necrosis tumoral y proteínas extrañas, infecciones intratumorales y secreción de proteínas patógenas. Se trata de una fiebre de larga evolución, resistente a todo tratamiento antibiótico y antipiréticos. Se han identificado inmunomoduladores como interleukina 6, la interleukina I, el factor alfa de necrosis tumoral y los interferones que estimulan la síntesis de proteínas de fase aguda en los hepatocitos⁸³.

Hepatopatía o Síndrome de Stauffer: descrito por Stauffer en 1961, se trata de una hepatoesplenomegalia reversible y que se caracteriza por la retención de bromosulfaleína, la elevación de los niveles de fosfatasa alcalina, bilirrubina, alfa 2 globulina e hipoprotrombinemia, en ausencia de metástasis hepática. Este síndrome se ha relacionado con la producción de algún tipo de modificador (hepatotóxina) de la respuesta biológica hasta ahora desconocido, desaparece al realizar nefrectomía y existe controversia si supone un factor pronostico negativo, aunque la persistencia tras la nefrectomía o la aparición posterior a la misma, debe hacer pensar en la existencia de metástasis no detectadas⁸⁴.

Hipercalcemia: aparece en un porcentaje de casos entre el 1% y el 13%, se produce por aumento de la actividad osteoclástica, por hiperproducción de vitamina D, hipersecreción de sustancias similares a la PTH o de prostaglandina E. Se diferencia de la producida por el hiperparatoidismo primario por ser de instauración rápida, resistente a corticoterapia, acompañarse de alcalosis hipocaliémica, tener ausencia de lesiones óseas y litiásicas y una excreción fraccional de calcio aumentada⁸⁵.

Amiloidosis: se desarrolla en el 3-5% de los casos, afectando al riñón, hígado y glándulas suprarrenales. En los casos de afectación renal se manifiesta por insuficiencia renal y albuminuria, llegando a producir en algunos casos un síndrome nefrótico⁷⁸.

Hipersecreción de ACTH ectópica: ocurre en un escaso porcentaje de pacientes (1-2%) y se diferencia de la enfermedad de Cushing en varios parámetros, entre los que destacan ser de instauración más rápida, ausencia de secreción de aldosterona, reducción de los niveles tras la administración de dexametasona y carecer de manifestaciones floridas⁸⁶.

Alteraciones neurológicas: se han descrito distintas manifestaciones neurológicas entre las que destacan.

Encefalitis límbica: cursa con anormalidades del estado mental y la conducta compatibles con alteraciones psiquiátricas. Se caracteriza por un estado de confusión seguido de pérdida de memoria retentiva y demencia. El signo histopatológico característico es una infiltración linfocitaria perivascular leptomeníngea. Afecta fundamentalmente a la sustancia gris. La etiopatogenia es desconocida^{87,88}.

Enfermedad de la neurona motora: simula a la esclerosis lateral amiotrófica y se caracteriza por atrofia muscular; fasciculaciones, debilidad flácida y ausencia de alteraciones sensitivas. Histológicamente se objetiva degeneración de las células del asta anterior; de los ganglios dorsales y de las columnas posteriores. La enfermedad regresa o se estabiliza tras la nefrectomía⁸⁹.

Trastornos neuromusculares: polineuropatías, polimiositis y dermatomiositis⁹⁰.

Otras alteraciones: son las producidas por la secreción de las gonadotrofinas, prolactina, prostaglandinas, enteroglucagón, glucagón e insulina en niveles anormales, así como de fosfatasa alcalina, diferente a la de la disfunción hepática no metastásica. Estas alteraciones son poco frecuentes⁷⁸.

SIGNOS Y SÍNTOMAS DE LA ENFERMEDAD METASTÁSICA

Las localizaciones metastásicas más frecuentes del cáncer renal son el pulmón, hueso e hígado⁹¹. La mayoría de las metástasis pulmonares pueden observarse en la radiografía de tórax y son clínicamente silentes, salvo las de localización endobronquial que pueden producir hemoptisis o las lesiones pleurales que, en ocasiones, provocan dolor pleurítico que puede simular un origen neumónico

Las metástasis óseas de los carcinomas renales suelen ser líticas, vascularizadas y muy dolorosas y pueden debutar induciendo fracturas patológicas de los huesos en los que se establecen. Sus localizaciones preferentes son: costales 39%, vertebrales 32%, ilíaco 30%, fémur 27%, húmero 21% y cráneo 16⁹¹.

Las metástasis hepáticas se presentan en estadios avanzados de la enfermedad, pueden producir ictericia y disfunción hepática.

HISTORIA NATURAL

Una de las características que definen la historia natural del carcinoma renal es la extraordinaria variabilidad de su comportamiento. Todas las formas de presentación y evolución son posibles. Una vez que el tumor está diseminado o presenta recidiva locoregional, la probabilidad de sobrevivir es muy baja y únicamente un 10-40% de los pacientes superan los 12 meses⁹².

Entre las características que pueden definir al carcinoma renal se pueden seleccionar las siguientes:

- Cuadro clínico de inicio específico, con presentación multiforme y en ocasiones de difícil diagnóstico.
- Capacidad de generar metástasis independientemente del tamaño tumoral.
- Multifocalidad o presencia de nódulos satélites.
- Diversidad en la capacidad de progresión y recurrencia. Hasta un 11% de los pacientes pueden presentar recurrencias tardías⁹³.
- Alto índice de metástasis: alrededor del 30% de los pacientes debutan con metástasis en el momento del diagnóstico. Un 25% se presentan como enfermedad localmente avanzada y un 45% con enfermedad localizada. De estos últimos, prácticamente la mitad desarrollarán metástasis durante el seguimiento. Es decir, se calcula que en torno al 60% de los pacientes presentarán metástasis en algún momento de la evolución de la enfermedad⁹⁴.
- Capacidad metastásica a órganos inusuales: se extiende por vía directa a través de la capsula renal con invasión posterior de las vías de drenaje, tanto linfática como hemática. La vía linfática afecta sucesivamente a los ganglios regionales retroperitoneales, abdominales, mediastínicos, supraclaviculares, cervicales, axilares e inguinales. La vía hematológica a través de la vena renal supone la metastatización a diversos órganos, siendo los más frecuentes: pulmón, hígado, hueso, sistema nervioso central y piel. Es característico la diseminación a localizaciones inusuales como ojo y orbita, tiroides, vagina, cuerpo cavernoso, nasofaringe, laringe, colon y cuello⁹⁵.
- Quimiorresistencia: el cáncer renal es uno de los tumores que menos responde al tratamiento quimioterápico; uno de los principales mecanismos de quimiorresistencia es la expresión en la superficie celular de la glicoproteína P. Ésta promueve el bombeo de los citostáticos al exterior de la célula, impidiendo por tanto su acción⁹⁶.

DIAGNÓSTICO POR IMAGEN

Debido a la mejora en las técnicas de imagen los pacientes son diagnosticados actualmente en estadios más precoces, presentando un 25% de casos enfermedad metastásica frente al 50% de los enfermos que de las series clásicas. Actualmente casi el 60% de los tumores renales se diagnostican en enfermos asintomáticos y en una alta proporción, el diagnóstico es de manera accidental⁹⁷.

Esta mejora en los sistemas de detección, también ha permitido el diagnóstico de tumores más pequeños, como se recoge al comparar series de los años 70 (Smith et al), en los que sólo un 5,3% de los tumores renales diagnosticados tenían menos de tres. Dato que se incrementaba hasta un 25% diez años después⁹⁸.

Los avances tecnológicos generan casi a diario nuevos aportes a la radiología, no solo desde el punto de vista diagnóstico, sino también en áreas terapéuticas donde las técnicas radiológicas son utilizadas como apoyo imprescindible para su aplicación.

RADIOLOGÍA SIMPLE

Quizás desplazada por el empuje de otras técnicas, ha perdido interés la semiología de la masa renal analizada desde la radiología simple de abdomen.

Cambios de la normalidad y signos indirectos, pueden llevar al diagnóstico de presunción, a la espera de la realización de pruebas más sensibles y específicas.

Los signos radiológicos producidos como consecuencia del efecto masa (desplazamiento de estructuras, borramiento de línea psoas, elevaciones diafragmáticas, aumento de densidades, etc), la presencia de calcificaciones que no sugieren enfermedad litiásica, o la evidencia de lesiones óseas metastásicas, especialmente de tipo lítico, son signos radiológicos compatibles con la presencia de un carcinoma renal.

UROGRAFÍA

Desde el punto de vista urográfico, la evidencia de un tumor renal depende de su localización, su tamaño, el desplazamiento del parénquima sano, el grado de invasión y distorsión del tejido renal adyacente y de los sistemas colectores, así como de la pelvis renal.

Es posible aun así, encontrar tumores renales que afectan a gran parte del parénquima, y sin embargo, no producen afectación de la vía excretora. Es por este motivo, y sobre todo en tumores de pequeño tamaño, que las neoplasias pueden comportarse de forma silente desde el punto de vista urográfico.

Los carcinomas que se desarrollan en las proximidades de la pelvis renal, tales como los tumores medulares, pueden producir gran alteración de la pelvis renal y ser confundidos por tumores del tracto urinario superior⁹⁹.

Los principales hallazgos urográficos en las tumoraciones renales son: desplazamiento de los sistemas colectores, deformidad calicial, cambios en la pelvis renal, afectación ureteral, obstrucción en la vía urinaria, anulación funcional, calcificaciones y efecto radiológico de masa.

ULTRASONIDO

Las neoplasias renales suelen presentarse como lesiones sólidas, isoecogénicas o ligeramente hipoecoicas. Las pequeñas neoplasias, inferiores a tres centímetros, suelen ser homogéneas, pero las de gran tamaño pueden mostrar una ecogenicidad heterogénea debido a la presencia de necrosis intratumoral o los cambios producidos por hemorragias tumorales. Charboneu describe en su serie, un 86% de tumores isoecogénicos, 10% de tumores hipoecoicos y un 4% de tumores hiperecogénicos¹⁰⁰. La ecografía presenta diferente sensibilidad para el diagnóstico de una neoplasia renal en función del tamaño de la masa, siendo del 26% para tumores inferiores a un centímetro, 60% para tumores de entre uno y dos centímetros y mayor de 80% en neoplasias a partir de dos¹⁰¹.

TOMOGRAFÍA COMPUTERIZADA

La tomografía computerizada (TC) se constituye como la prueba diagnóstica esencial del carcinoma renal, utilizándose de manera preferente para:

- La correcta estadificación de la lesión.
 - La detección de la afectación perirrenal.
 - Descartar la presencia de enfermedad extrarrenal y las metástasis.
 - Informar de la existencia de adenopatías locorregionales.
 - Diagnosticar la afectación de la vena renal y/o de la vena cava.
 - Diagnosticar las recidivas locales.
 - Su uso como método guía de punción-aspiración diagnóstica.
- Su aplicación esencial en el diagnóstico de masa renales quísticas complejas^{102,103}.

RESONANCIA MAGNÉTICA

Con los avances actualmente disponibles, la resonancia magnética (RM) permite identificar lesiones pequeñas, diferenciar entre lesiones quísticas y solidas y detectar la presencia de hemorragia dentro de un quiste con mayor seguridad que la TC.

Al igual que en la TC, solo se identificarán estas lesiones cuando producen pérdida de la diferenciación corticomedular y deformen el contorno renal; sin embargo la utilización del contraste intravenoso ha aumentado la sensibilidad de la RM para detectar este tipo de lesiones de pequeño tamaño.

La valoración del sistema venoso es uno de los objetivos más importantes dentro del estudio de estadificación del cáncer renal, esencialmente para la planificación del tratamiento quirúrgico a seguir. La sensibilidad de la RM en la detección del trombo en la vena cava inferior, se encuentra entre el 80-100% según las series siendo superior a la TC y similar a la cavografía¹⁰⁴⁻¹⁰⁶.

La RM tiene una alta sensibilidad para detectar la afectación perirrenal por la neoplasia (97-98%), y suprarrenal, identificando interfases tejido-grasa y alteraciones de la señal del psoas (119)¹⁰⁷.

ANGIOGRAFÍA

Aunque su uso no es el habitual dentro del diagnóstico de neoplasias renales. La angiografía, aporta signos específicos de afectación tumoral, que han sido reconocidos fundamentalmente durante el estudio angiográfico previo a tratamientos mediante embolización prequirúrgica en el pasado. O bien, en la actualidad, en tratamientos paliativos y como planificación terapéutica previa a nefrectomías parciales y tratamiento por ablación percutánea.

Estos signos son los de hipertrofia colateral vascular, capsular o retroperitoneal, el alargamiento y tortuosidad de los vasos, la imagen típica de estos en sacacorchos, el efecto de masa con zonas de hiper/hipovascularización, el desplazamiento de estructuras parenquimatosas sanas, la aparición de fístulas arteriovenosas como consecuencia de la neovascularización, lagunas vasculares, y el retraso en el lavado de contraste por la trombosis venosa renal.

Aproximadamente el 70-80% de los adenocarcinomas renales están hipervascularizados, y solo el 20-30%, son hipo o avasculares, en relación a tumoración quística o necrosis de la neoplasia, además de los linfomas renales que tienen esta peculiaridad dejando una imagen en empalizada¹⁰⁸.

MEDICINA NUCLEAR

Esta técnica no es utilizada normalmente dentro del diagnóstico de tumoración renal, y los signos indirectos, suelen aparecer en el contexto de una anulación funcional, o ser puesto de manifiesto en el preoperatorio, cuando es estudiada la función renal gammagráfica en conjunto, y por separado de las dos unidades renales. Los hallazgos corresponden a anulación funcional con déficit de captación del radiomarcador con efecto de masa, y todos aquellos signos derivados de la posible obstrucción dinámica del riñón afecto.

TOMOGRAFÍA POR EMISION DE POSITRONES (PET)

La PET es una técnica de diagnóstico, por imagen no invasiva que permite estudiar la actividad metabólica y la perfusión, proporcionando tanto imágenes como mapas de la actividad metabólica. Las imágenes PET se obtienen tras la administración por vía intravenosa de ciertos radiotrazadores emisores de positrones¹⁰⁹.

En la actualidad no se han encontrado diferencias significativas ni en el diagnóstico ni en la estadificación del cáncer renal, con respecto al resto de estudios morfológicos convencionales. Las principales aplicaciones del PET, en la actualidad, son las del diagnóstico de enfermedad metastásica y el de la efectividad del tratamiento postinmunoterapia¹¹⁰.

BASES MOLECULARES DEL CÁNCER

El fenotipo celular es el resultado de un equilibrio dinámico entre la maquinaria de transcripción-traducción en la célula y su entorno, que controla la proliferación y diferenciación celular propias de cada órgano o tejido. En las células tumorales este equilibrio se altera como consecuencia del acúmulo de múltiples y sucesivas alteraciones genéticas, llevando a una pérdida de la homeostasis, así como de las funciones celulares y fisiológicas. Este desequilibrio, en muchos casos, es la causa de la malignización celular.

Para que una célula normal adquiriera un fenotipo maligno, se han de adquirir una serie de condiciones o estados que permitan la viabilidad celular fuera de los controles del sistema. Estas características se resumen de manera magistral en los artículos publicados por Hanahan y Weinberg^{111,112}, en los que se hacen un repaso general por cada evento necesario atendiendo a las principales alteraciones que los provocan. Estas alteraciones implican autosuficiencia en el crecimiento, insensibilidad a factores inhibidores del crecimiento, evasión de la apoptosis, capacidad de replicación ilimitada, capacidad angiogénica y capacidad de invasión y metástasis (figura 15).

Actualmente conocemos que las células neoplásicas acumulan gran número de mutaciones, que son adaptativas a las situaciones ambientales en las que les toca desarrollarse (mutaciones “passenger”), pero que existen

alteraciones genéticas, que son las responsables de la transformación y que se encuentran al inicio de la evolución clonal de la enfermedad (mutaciones “driver”).

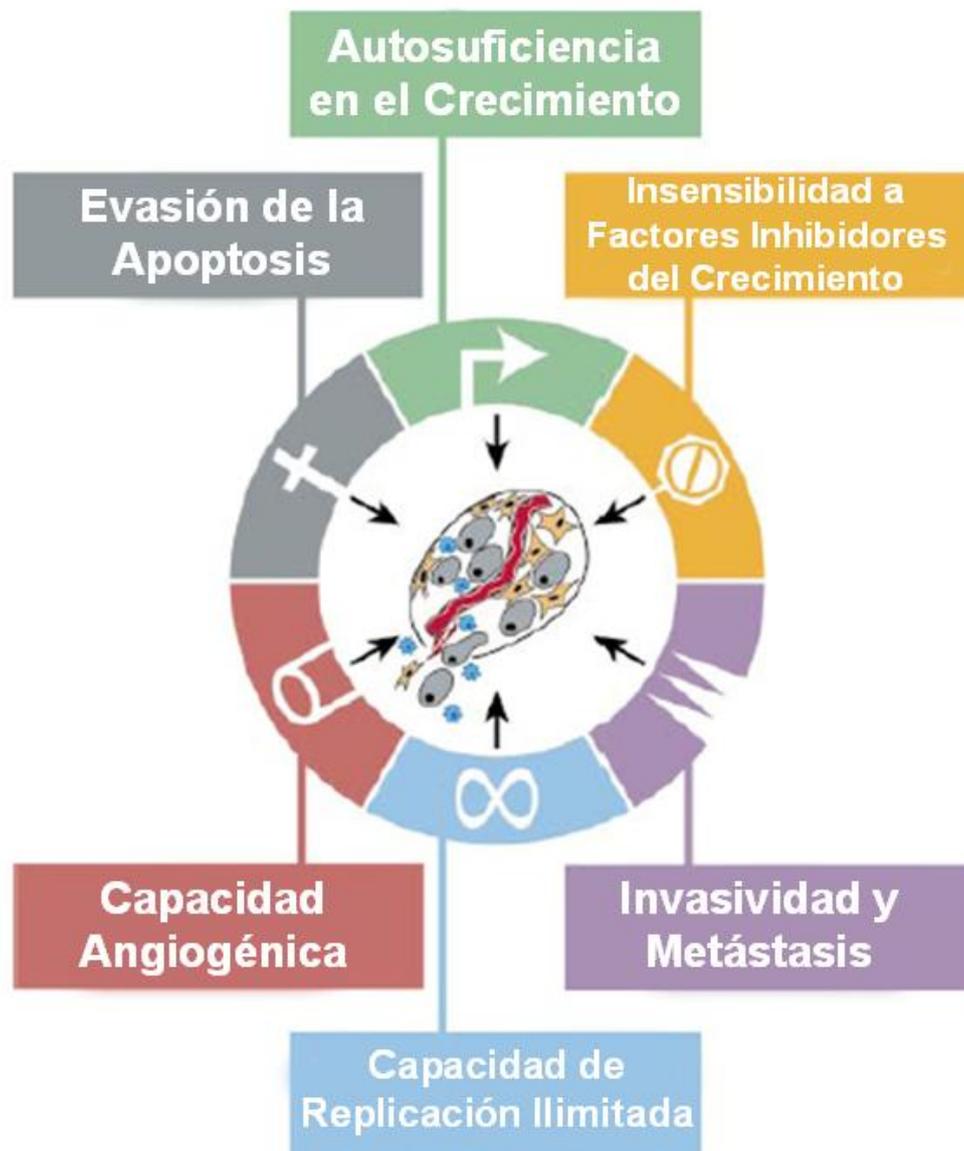


Figura 15. Capacidades necesarias para la carcinogénesis. Capacidades que una célula debería adquirir para poder progresar hacia un tumor maligno. Adaptada de Hanahan y Weinberg, 2.000¹¹¹. (Aunque existe una versión revisada de este artículo, de 2011, esta imagen nos parece más ilustrativa de los conceptos que queremos destacar).

A continuación describiremos muy someramente dichas características.

Autosuficiencia en el crecimiento

Las células normales requieren señales externas de crecimiento para comenzar su ciclo replicativo, pero es indispensable para una célula tumoral la capacidad de crecer en ausencia de dichas señales. Para ello es necesario activar las vías de señalización en alguno de sus puntos; ya sea extracelularmente secretando factores autocrinos que actúan en los receptores de la misma célula, o intracelularmente mediante una activación continua de alguno de los elementos de vías reguladoras del crecimiento .^{113,114}.

Algunos genes que controlan las vías de activación de la proliferación han sido denominados Proto-Oncogenes. Cualquier variación que induzca la activación constitutiva de estos genes los convierte en oncogenes; es decir, genes que confieren a la célula capacidad continua de crecimiento independiente de señales externas. Ejemplos importantes de familias con genes oncogénicos son los receptores del factor de crecimiento epidérmico (EGFR, Epidermal Growth Factor Receptor), la vía de Ras/Raf/Erk, la vía del fosfatidil inositol/AKT, la familia STAT (Signal Transducer and Activator of Transcription), Myc, etc.^{115,116}.

Insensibilidad a factores inhibidores del crecimiento

Para mantener el equilibrio en el crecimiento, las células normales son sensibles a ciertas señales que conllevan un freno en la proliferación o inducen la muerte celular. La célula tumoral sin embargo, no debe responder a este tipo de factores con el fin de mantener un crecimiento constante. Algunos de estos factores implicados en el bloqueo de la proliferación o la inducción de la apoptosis se han catalogado clásicamente como **Genes Supresores Tumorales**, y su inactivación o pérdida es un evento frecuente en la evolución neoplásica. Entre los genes supresores más relevantes encontramos TP53, CDKN2A , retinoblastoma (RB) y STK11^{117,118}.

Evasión de la apoptosis y capacidad de replicación ilimitada

Evitar la muerte celular programada es una de las estrategias, que junto a la capacidad de replicación ilimitada, confiere la inmortalidad a una célula. El bloqueo de la muerte programada se consigue mediante el bloqueo de las vías implicadas en el control de la apoptosis, como son las mutaciones

de p53 comentadas anteriormente o la sobreactivación de BcL-2 entre otras. La capacidad de replicación ilimitada se puede adquirir inhibiendo la reducción de los telómeros, que ocurre con cada división mitótica, mediante la reactivación de la enzima telomerasa, que es un hallazgo constante en los tumores humanos¹¹⁹⁻¹²⁵.

Capacidad angiogénica y metastásica.

El tumor requiere oxígeno y nutrientes para su supervivencia. Por ello debe ser capaz de garantizar la presencia de sistemas de vascularización suficientes y, por tanto, para crecer en tamaño debe tener capacidad angiogénica. Con frecuencia las neoplasias pulmonares sobreexpresan el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF, Vascular Endothelial Growth Factor). Esta proteína cumple un papel crucial en el reclutamiento y proliferación de células endoteliales para formar nuevos vasos. Asimismo, se ha definido como una diana útil en las nuevas terapias antitumorales, especialmente en el adenocarcinoma.

En un punto de la evolución tumoral, las células adquieren la capacidad de invadir los tejidos adyacentes y de metastatizar a otros órganos. Esta función permite a la célula tumoral establecer otros nichos de crecimiento, asegurando así su supervivencia. Aun no está muy claro el origen de esta capacidad pero se han propuesto mecanismos genéticos y alteraciones en distintas vías (por ejemplo, WNT/TCF), como modificaciones moleculares que facilitan que la célula tumoral adquiera capacidad metastásica¹²⁶⁻¹³⁰.

TRANSICIÓN EPITELIO MESÉNQUIMA (TEM)

El proceso de Transición Epitelio –Mesénquima, descrito en 1968 por Elisabeth Hay, hace referencia al cambio fenotípico, por el que las células con características epiteliales adquieren propiedades de células mesenquimales, de movilidad e invasividad.

Se trata de un proceso crucial en estadios tempranos del desarrollo embrionario y también, constituye la primera fase de la progresión tumoral y es importante en la cascada metastásica^{131,132}.

Las células epiteliales y las mesenquimales difieren en varias características funcionales y fenotípicas. Las células epiteliales forman capas de células contiguas mediante estructuras de membrana especializadas como las uniones estrechas (tight junctions), las uniones adherentes (adherens junctions), los desmosomas y las uniones gap. Poseen polarización apicobasal, que se manifiesta mediante la distribución localizada de las moléculas de adhesión (cadherinas y ciertas integrinas), la organización localizada del citoesqueleto y la presencia de una membrana basal o lámina basal. Las células epiteliales en condiciones normales ni se desenganchan ni migran, aunque tienen cierta capacidad motriz dentro de la capa epitelial¹³³.

En contraste las células mesenquimales no forman capas organizadas, no poseen polaridad apicobasolateral, ni la misma organización del citoesqueleto que las células epiteliales. Las adhesiones con las células mesenquimales vecinas son menos fuertes y no están asociadas a una lámina basal, lo que les permite una mayor capacidad de movimiento¹³⁴.

Por lo tanto los tejidos mesenquimales son tejidos menos organizados y en muchos casos juegan un papel de soporte o de relleno, mientras que los tejidos epiteliales, presentan una organización más compacta responsable de recubrir las diferentes cavidades y comportarse, como una barrera que entre otras funciones protege, secreta y absorbe sustancias¹³⁵.

La TEM engloba un amplio espectro de cambios moleculares, intercelulares e intracelulares. La adquisición de la habilidad de migrar e invadir la matriz extracelular como célula individual, se considera una marca funcional del programa TEM¹³⁶.

Entre los muchos factores y genes implicados en este proceso de transición, vamos a describir someramente aquellos que se han analizado a lo largo de este trabajo de tesis doctoral.

INTEGRINAS

Las integrinas son una familia heterodimérica de glicoproteínas, con un rol importante en varios procesos biológicos como agregación plaquetaria, inflamación, función inmune, reparación de tejidos, metástasis celular y migración tisular durante la embriogénesis^{137,138}.

Estructuralmente todas poseen dos subunidades no covalentes denominadas alfa y beta, habiéndose identificado por lo menos 20 subunidades alfa y 8 subunidades beta. Las integrinas se unen a una amplia variedad de proteínas de la matriz extracelular denominadas ligandos, siendo las más importantes fibronectina, fibrinógeno y laminina, aunque también se unen a miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas¹³⁹⁻¹⁴¹.

Existen muchos sinónimos en la denominación de estas moléculas, denominándose como CD (cluster determinants) de acuerdo al anticuerpo monoclonal con que fueron identificadas¹⁴².

Las integrinas están involucradas en la metástasis tumoral, éstas pueden facilitar que una célula de un tumor primario se libere y luego pueda ser transportada por el sistema circulatorio o linfático a distancia; las integrinas también permiten, que estas células neoplásicas se adhieran al tejido diana o que se unan a las plaquetas de manera, que puedan esconderse del sistema inmune, por último facilitan la producción de colagenasa necesaria para la invasividad y juegan un papel en la angiogénesis^{143,144}.

La integrina alfa-6 / beta-1 (ITGA 6) es un receptor de laminina en las células epiteliales y juega un papel estructural crítico del desmosoma^{145,146}. La ITGA6 se expresa predominantemente en los epitelios, siendo las isoformas X1 de expresión ubicua, mientras que las isoformas X1X2 se expresan principalmente en corazón, riñón, placenta, colon, duodeno, mioblastos y miotubos.

Los procesos de adhesión celular y la migración son características importantes en la invasión tumoral, siendo mediada en parte por integrinas. Se ha descrito que las integrinas disminuyen significativamente su expresión en el cáncer de próstata humano. Una excepción es la alfa 6 integrina, existiendo datos que sugieren que la expresión de la integrina alfa 6 es ventajoso para la invasión de células del adenocarcinoma prostático¹⁴⁷.

Existen estudios en los que la integrina 6 se asocia a otros tipos de cáncer como son el glioblastoma¹⁴⁸, y el cáncer de colon¹⁴⁹.

La integrina alfa-5 / beta-1 (ITGA5): es un receptor de fibronectina y fibrinógeno (figura 16). Reconoce la secuencia R-G-D en sus ligandos. La

interacción con la proteína Tat extracelular viral del VIH parece mejorar la angiogénesis en las lesiones de sarcoma de Kaposi¹⁵⁰.

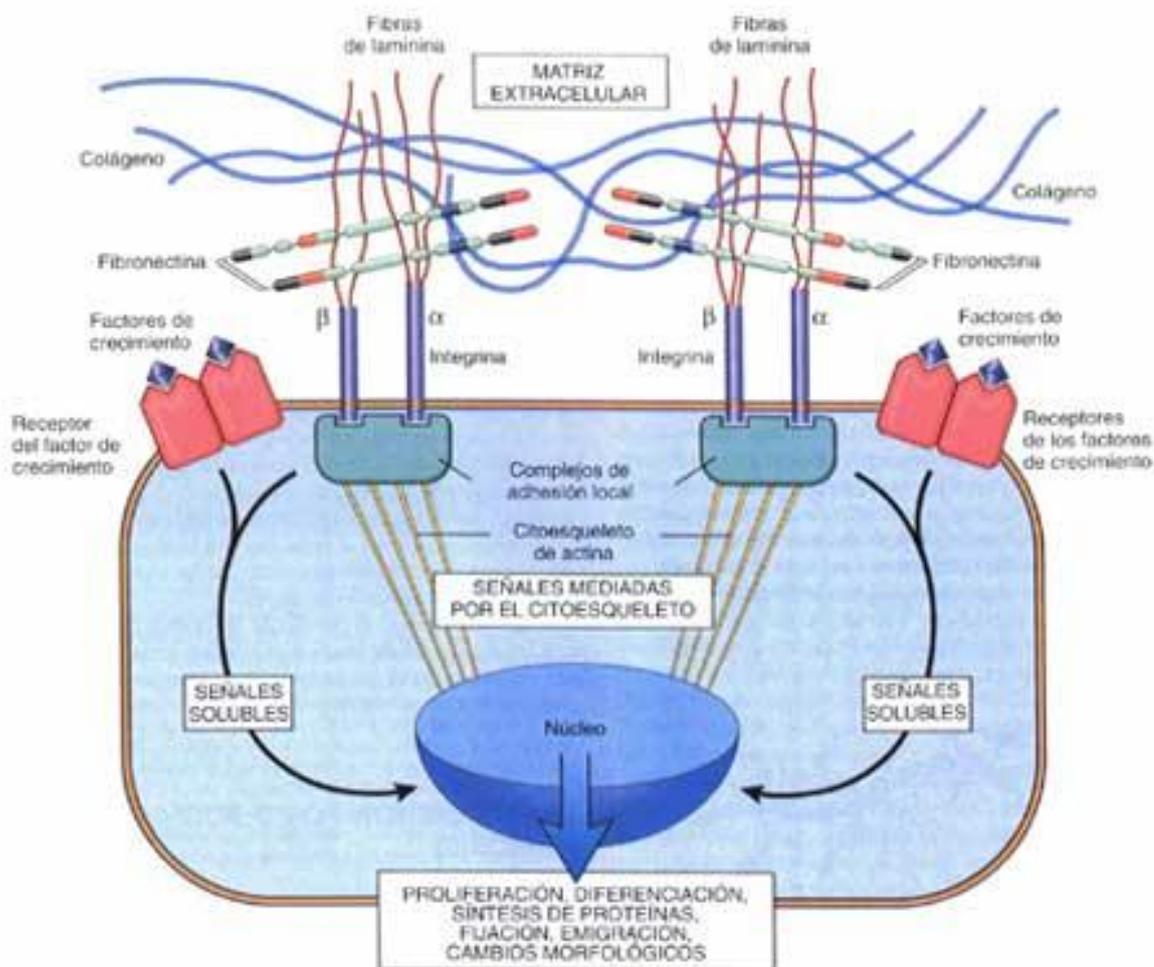


Figura 16. Mecanismos por los que la matriz extracelular y los factores de crecimiento influyen en el crecimiento, diferenciación y síntesis de proteínas.

Las variaciones en la señalización de la integrina contribuyen a la progresión de ciertas enfermedades como el cáncer¹⁵¹.

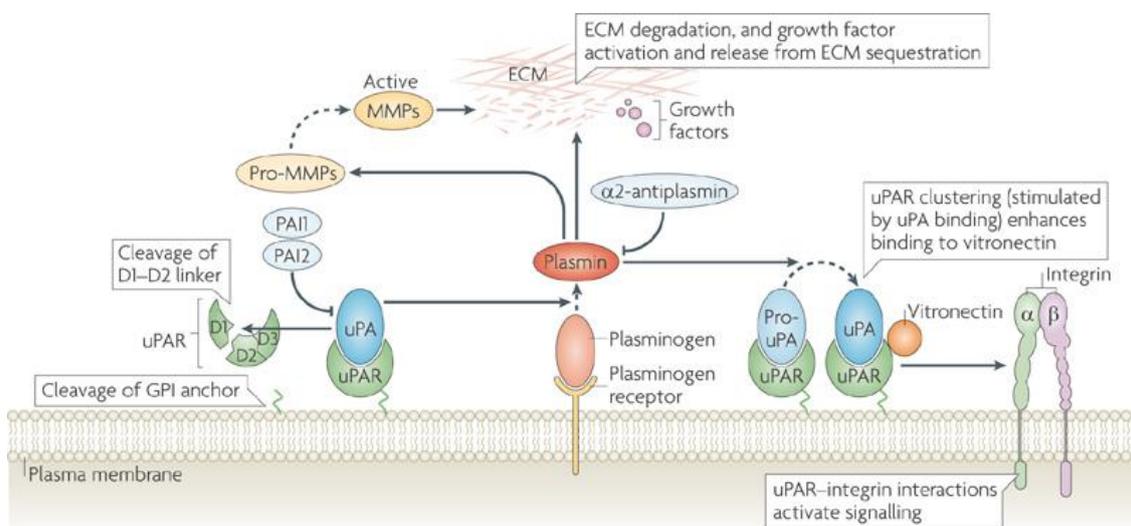
El crecimiento independiente y la fijación de las células tumorales, se presenta como consecuencia de un desacoplamiento del complejo integrina-sustrato. Se resalta el papel de la integrina $\alpha 5 \beta$, que participa en la regulación proliferativa de las células tumorales^{152,153}.

También existen estudios científicos de la relación de esta integrina con leucemias, tumores ginecológicos, tumores del aparato digestivo.¹⁵⁴⁻¹⁵⁸

RECEPTOR ACTIVADOR DEL PLASMINÓGENO UROQUINASA

El gen para el receptor activador del plasminógeno de tipo uroquinasa humana (UPAR), se encuentra en el cromosoma 19q13d. La proteína carece de dominios transmembrana o citoplásmicos, y puede ser anclada a la membrana plasmática por un glicosil-fosfatidilinositol (GPI). Otros nombres que recibe son: CD87, T-PAR, UPAR, URKR^{159,160}.

La transcripción del gen UPAR está regulada por un promotor TATA-less proximal, en parte a través de la unión a SP1¹⁶¹. (Figura 17)



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Figura 17. Regularización de la señal celular por UPAR.

La proteína UPAR se identificó originalmente en la línea celular humana U937 tipo monocito, como el receptor de membrana para la serina proteasa de tipo uroquinasa activador del plasminógeno (UPA)¹⁶². Desde entonces se ha implicado en un gran número de condiciones fisiológicas y patológicas, incluyendo la invasión y metástasis del cáncer.

En condiciones homeostáticas normales, PLAU se expresa en las siguientes series derivadas de las células de la médula ósea: monocitos, neutrófilos, eosinófilos y macrófagos. En la propia médula ósea, UPAR se ha demostrado en mielocitos y monocitos, elementos mieloides maduros. La expresión del receptor, está regulada positivamente de manera significativa a la estimulación de citoquinas de las diversas líneas de células derivadas, de monocitos *in vitro*¹⁶³.

Según estas investigaciones PLAUR se clasifica como un antígeno de diferenciación. La cantidad de UPAR en los órganos homeostáticos es en general baja, y cuando está presente, por lo general, se encuentra asociado a células endoteliales, como se demuestra en estudios sobre ratones normales en el pulmón, el riñón, el timo, el hígado y el corazón{Solberg, 2001 #153

La expresión de PLAUR en el riñón y el timo también se ha demostrado en muestras humanas {Plesner, 1994 #148;Wei, 2008 #147}. Considerando que esta proteína es escasa en condiciones normales, la expresión del receptor se ha observado en diversos procesos de remodelación de tejido no homeostáticos como durante la cicatrización de heridas^{164,165}.

En el carcinoma de células escamosas de la piel, la proteína PLAUR se detecta en células cancerosas bien diferenciadas, en el frente invasivo de la lesión tumoral^{166,167}.

En vista de la localización de UPAR en los queratinocitos, en la regeneración de la epidermis, en la cicatrización de heridas, se ha propuesto que existen similitudes entre los mecanismos de generación y regulación de la proteólisis extracelular durante la re-epitelización de la piel y la invasión del carcinoma de células escamosas¹⁶⁷.

Como un segundo ejemplo de la remodelación de tejidos, se encuentra que al final de la gestación en el ratón muestra la expresión de uPAR en espongioblastos y en células endoteliales en la placenta¹⁶⁵.

En la contraparte humana, PLAUR se encontró en las células endoteliales y macrófagos, en asociación con depósitos de fibrinoide, lo que sugiere una participación en el desarrollo de la placenta^{168,169}.

En tercer lugar, PLAUR está presente en la regresión de las glándulas mamarias, en la involución post-lactancia en ratones¹⁶⁵. Estos tres procesos imitan algunas de las características de la invasión del cáncer y, en consecuencia se pueden utilizar como sistemas modelo para explicar el papel de PLAUR en la transformación maligna. En efecto, el receptor está regulado positivamente en varios tipos de cáncer, la expresión a menudo, se limita a las células del estroma asociadas con el tumor, como se detalla en estudios de tumores gastro-intestinales, de mama y cánceres de células escamosas¹⁷⁰⁻¹⁷⁴.

Otros ejemplos conformes a este patrón incluyen carcinoma hepatocelular, donde PLAUR se ha encontrado en macrófagos y fibroblastos, así como en una subpoblación de hepatocitos tumorales raros CK7-positivo. En las lesiones invasivas del adenocarcinoma de próstata humano, PLAUR se expresa también por los macrófagos, que se encuentran por todo el tejido intersticial de los tumores¹⁷⁵⁻¹⁷⁷.

DESMOGLEÍNA 2

Es una glicoproteína transmembrana de 1.118 aminoácidos, que tiene una masa molecular que varía de 97 a 18 kDa. Esta Desmogleína 2 (DSG2) es un componente de la unión a calcio de los desmosomas. Se expresa en diversas células, incluyendo los epitelios simples y el miocardio, los tumores y en cultivos celulares^{178,179}.

Su función es la de adhesión célula-célula epitelial, muy importante en el desarrollo de tumores. Las desmogleínas al ser glicoproteínas transmembrana de los desmosomas, tienen una estructura adhesiva prominente en los tejidos epiteliales¹⁸⁰. Se ha revelado que existen varias subfamilias de DSG (tipos 1, 2 y 3) (Buxton et al., 1993). La DSG2 se expresa ampliamente y se encuentra junto con los desmosomas de la capa basal del epitelio estratificado, epitelios simples, y las células no epiteliales como en el miocardio del corazón y los centros foliculares de los ganglios linfáticos¹⁸¹.

Está implicada en las siguientes enfermedades:

- Cáncer gástrico: La DSG2, pero no las tipo 1 o 3, se expresa en el epitelio del estómago. La Disminución en la expresión de DSG2 está involucrada en un subconjunto de carcinomas gástricos, en particular, adenocarcinomas difusos gástricos, y está asociada con un peor pronóstico^{182,183}.

Cáncer de piel: DSG2 está muy relacionada con el carcinoma de células escamosas cutáneo, y se correlaciona con el riesgo de desarrollo de metástasis¹⁸⁴. La sobreexpresión de DSG2 en los queratinocitos epidérmicos, regula múltiples vías de señalización asociadas con el aumento de la tasa de crecimiento, y la mayor activación de múltiples vías de crecimiento y

supervivencia, incluyendo la fosfatidilinositol 3-quinasa, activada por mitógenos proteína quinasa, STAT3 y vía NF-KB¹⁸⁵.

- Cáncer de páncreas: Los niveles de DSG1 y DSG2 se reducen en los tumores pancreáticos¹⁸⁶.

- Displasia arritmogénica: Las mutaciones en DSG2 contribuyen al desarrollo de esta displasia del ventrículo derecho^{187,188}.

COLAGENO 11 ALFA 1

El colágeno tipo XI alfa 1 (COL11A1) es un componente escaso dentro de la familia de los colágenos. Aunque su expresión ha sido descrita en varios tejidos¹⁸⁹, su expresión principal es en el tejido cartilaginoso, donde ayuda en el mantenimiento del diámetro estructural de las fibras de colágeno tipo II¹⁹⁰. Las mutaciones del COL11A1 se han asociado desde hace varias décadas con enfermedades asociados al tejido conectivo cartilaginosos, como los síndromes de Stickler¹⁹¹ y Marshall¹⁹², o la fibrocondrogénesis¹⁹³.

La primera descripción de este factor en cáncer se realiza en una línea de rhabdiosarcoma por el grupo del Dr Kleman¹⁹⁴ y desde entonces se ha estudiado en diversas patologías neoplásicas como en páncreas¹⁹⁵, gástrico¹⁹⁶, colo-rectal¹⁹⁷⁻¹⁹⁹,mama²⁰⁰ o pulmonar²⁰¹ donde siempre se encuentra sobreexpresado cuando se compara con el tejido normal adyacentes.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La transición epitelio mesénquima es un evento crucial en el desarrollo del cáncer renal. Para que el tumor tenga capacidad de crecimiento y expansión requiere activar distintas vías moleculares. Nuestra hipótesis es que la expresión de ciertas proteínas ligadas a eventos de transición epitelio mesénquima en el cáncer renal, podría comportarse como marcador pronóstico efectivo para la práctica clínica y además ayudar en el diagnóstico diferencial histológico, entre subtipos histológicos. Disponemos de datos previos de microarrays de expresión y hemos seleccionado los que mostraban mayores niveles de expresión, y eran susceptibles de análisis mediante inmunohistoquímica en tejido de archivo fijado en formol e incluido en parafina.

Y para validar dicha hipótesis nos planteamos los siguientes objetivos.

1. Reclutar una población de estudio con características similares a la clínica del cáncer renal en la población general y con un seguimiento prolongado.
2. Estudiar la expresión mediante inmunohistoquímica de distintos marcadores asociados al proceso de transición epitelio mesénquima seleccionados previamente a partir de datos de expresión de mRNA.
3. Asociar la expresión diferencial de los distintos marcadores con el subtipo histológico de cáncer renal y con su supervivencia global, teniendo en cuenta únicamente causas de mortalidad directamente relacionadas con la neoplasia renal.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. ARRAY DE EXPRESIÓN

El presente estudio tiene como base un experimento previo realizado en nuestro grupo de investigación del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Dicho estudio analizó mediante tecnología de microarrays de expresión (versión HGu95Av2. Affymetrix), la expresión génica diferencial en 8 casos de neoplasias renales (tabla 6).

Tabla 6. Resumen de las muestras utilizadas en los arrays de expresión.

| MUESTRA FINAL | NÚMERO DE MUESTRAS | CARACTERÍSTICAS |
|---------------|--------------------|------------------------|
| Pool 1 | 3 | Oncocitoma |
| Pool 2 | 3 | Carcinoma convencional |
| Pool 3 | 5 | Control |
| Pool 4 | 2 | Carcinoma cromóforo |

De todos los genes alterados, se determinaron un total de 104 genes que correspondieron a una expresión diferencial de marcadores asociados al microambiente tumoral. Posteriormente, y tras revisiones bibliográficas, se determinaron 14 genes de interés que relacionaban en mayor medida los distintos subtipos tumorales (tabla 7 y figura 18).

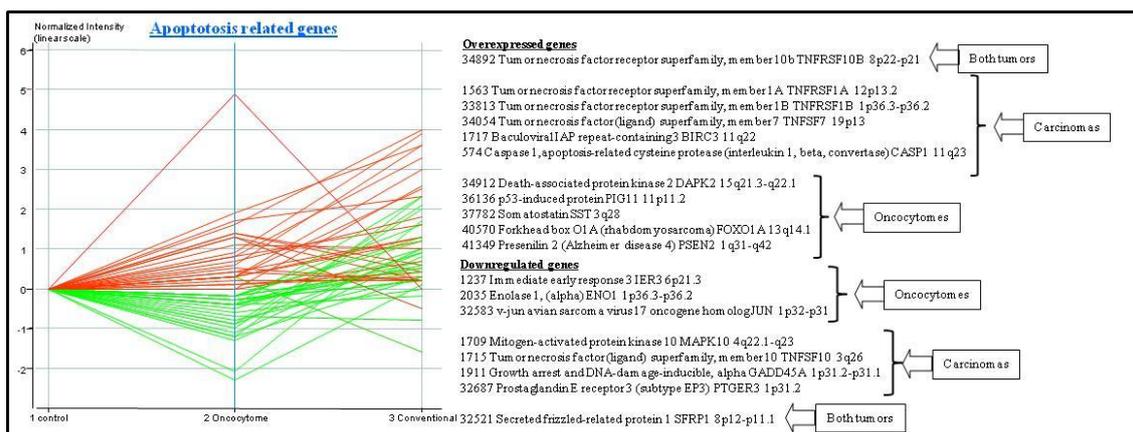


Figura 18. Expresión génica de neoplasias renales.

Tabla 7. Genes relacionados con tumores.

| GENES |
|--|
| APO protein 1 (APO1) |
| LAR-interacting protein 1a |
| Integrin alpha 6 (ITGA6) |
| Integrin alpha 5 (ITGA5) |
| Desmoglein 2 (DSG2) |
| Kallmann syndrome (KAL) |
| Cyclin E2 (CCNE2) |
| Collagen XI, alpha 1 (COL11A1) |
| Guanine nucleotide regulatory protein (GNAS) |
| Glucocorticoid receptor alpha |
| Phospholipase C (PLC) |
| Urokinase plasminogen activator receptor (PLAUR) |
| RAN-binding protein 1 (RANBP1) |
| M6 |

De entre los 14 genes resultantes, se seleccionaron seis mediante estudios bibliográficos que los vinculaba con la mecánica tumoral renal. Además, también se valoró la existencia de anticuerpos específicos contra dichos genes que hubieran sido testados con anterioridad por otros grupos de investigación. Estos seis genes fueron: Integrin alpha 6 (ITGA6); Integrin alpha 5 (ITGA5); Desmoglein 2 (DSG2); Collagen XI, alpha 1 (COL11A1), Urokinase plasminogen activator receptor (PLAUR) y Kallmann syndrome 1 (KAL1). Debido a dificultades técnicas, KAL1 no pudo analizarse por lo que quedó excluido finalmente del trabajo.

2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Para el desarrollo de esta tesis doctoral se han seleccionando un total de 156 pacientes, tratados en el Servicio de Urología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander y diagnosticados, en el Servicio de Anatomía Patológica del mismo Hospital.

2.1. SELECCIÓN DE PACIENTES

Todos los pacientes de este trabajo han sido intervenidos quirúrgicamente por sospecha de cáncer renal. Tras la obtención del material necesario para su diagnóstico durante la cirugía (nefrectomía parcial o radical), las muestras fueron valoradas y diagnosticadas en el Servicio de Anatomía Patológica. Este proyecto, cuenta con la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica de Cantabria. La lista de pacientes incluidos en el estudio, parte del análisis de expresión anteriormente citado. Con el fin de aumentar la población de estudio, hubo que incorporar nuevos individuos, elegidos aleatoriamente del registro de intervenciones quirúrgicas por cáncer renal del Servicio de Urología.

2.2. REVISIÓN DE HISTORIAS CLÍNICAS

Para la obtención de los datos clínicos de los pacientes, se ha recurrido al archivo de historias clínicas del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Para realizar el seguimiento de algunos pacientes, se ha utilizado el visor corporativo de historias clínicas del Servicio Cántabro de Salud. Los datos recopilados de la revisión de las historias, fueron recogidos en dos plantillas diseñadas al efecto.

Historia clínica de los pacientes (datos del Servicio de Urología)

- Número de historia clínica. Fue codificado posteriormente.
- Fecha de nacimiento.
- Sexo.
- Clínica al diagnóstico. Se exponen los síntomas que el paciente presenta al ser remitido a la consulta de urología.
- Diámetro de la neoplasia (ecografía/TAC). Se refiere a la dimensión de la masa renal determinada por pruebas de imagen.

- Fecha de la Intervención quirúrgica.
- Edad en la intervención quirúrgica.
- Número de biopsia. Se indexó igual que el número de la historia clínica.
- Riñón: lateralidad de localización de la masa renal.
- Localización tumoración: superior, inferior, mesorrenal o completa.
- Tipo nefrectomía: total o parcial.
- Metástasis: M_0 si no hay metástasis y M_1 si hay metástasis tumoral.
- Complicaciones: intraoperatorias, precoces o tardías.
- Evolución: recidiva local y fecha de recidiva; metástasis, localización, fecha y tratamiento de éstas; otras neoplasias.
- Fecha última revisión o muerte.
- Causa de muerte: por cáncer renal, otro cáncer u otra causa.

Diagnóstico anatomopatológico

- Lateralidad.
- Localización renal.
- Tumor único o múltiple.
- Lesiones asociadas.
- Tamaño.
- Tipo histológico. Según clasificación OMS.
- Grado de Fuhrman o grado de diferenciación.
- Necrosis y en su caso porcentaje.
- Invasividad: de tejido adiposo perirrenal, del tejido adiposo del seno renal, de la pelvis y/o de la vena renal.
- Contaje mitótico.
- Estadio en la pieza quirúrgica: según clasificación TNM.

Con el fin de homogeneizar los diagnósticos según las últimas recomendaciones de la OMS, y debido a que los pacientes reclutados provienen de distintos años, todos los casos fueron revisados y confirmados tras la obtención de todo el grupo de estudio.

2.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Para la inclusión de un paciente en la población de estudio, éste hubo de cumplir una serie de características concretas. Los criterios de inclusión finales han sido:

- Confirmación final de tumor renal. Pertenencia a alguno de los siguientes tipos histológicos: carcinomas de células claras renal (incluido el subtipo sarcomatoide), carcinoma de células renales papilar, carcinomas de células renales cromóforo y oncocitoma.
- Disponer para cada caso, la historia clínica detallada, con un seguimiento completo durante todo el período de tiempo que abarcara el estudio.
- Disponer de tejido suficiente y adecuado para realizar los estudios inmunohistoquímicos. Al ser muestras para el diagnóstico, se aseguró dejar siempre un remanente de tejido por si fuera necesario para la práctica médica general.

2.4. PERIODO DE ESTUDIO

Debido a que la historia natural del cáncer renal es muy variable (con estabilizaciones de larga duración, pero con posterior recidiva, incluso tras la nefrectomía completa) se antoja obligatorio un seguimiento de por vida.

Los pacientes que forman parte de este estudio fueron intervenidos quirúrgicamente, entre el 1 de abril de 1980 y el 7 de diciembre del 2004. La última actualización de las historias se realizó el 15 de enero de 2013, de esta manera se presenta un seguimiento mínimo de 9 años para los pacientes intervenidos más tarde.

3. METODOLOGÍA DE EXPERIMENTACIÓN CON MUESTRAS

Para la realización de la parte experimental de este trabajo se diseñó el análisis de la siguiente manera:

- Toma de muestras y construcción de arrays de tejidos.
- Estudio inmunohistoquímico.
- Valoración y cuantificación.
- Análisis estadístico.

3.1. TOMA DE MUESTRAS

Como se ha mencionado previamente, todos los casos elegidos para su estudio se reevaluaron por un sólo patólogo (Dr. Javier Gómez). Aprovechando este análisis, se determinó la zona más apropiada de cada muestra para la extracción de tejido tumoral en estudio.

Para el estudio de las muestras, se procedió a la realización de arrays tisulares. La técnica consiste en extraer del bloque donante, (previamente determinada la zona de estudio) un cilindro de tejido, mediante una aguja hueca, y depositarlo en un bloque nuevo de parafina, donde previamente hemos retirado la parafina en la posición que nos interesa (Figura 1). De este modo, utilizando diferentes bloques, conseguimos colocar de manera ordenada las diferentes muestras, obteniendo al final un bloque con todos los cilindros de las muestras a estudiar (figura 19).

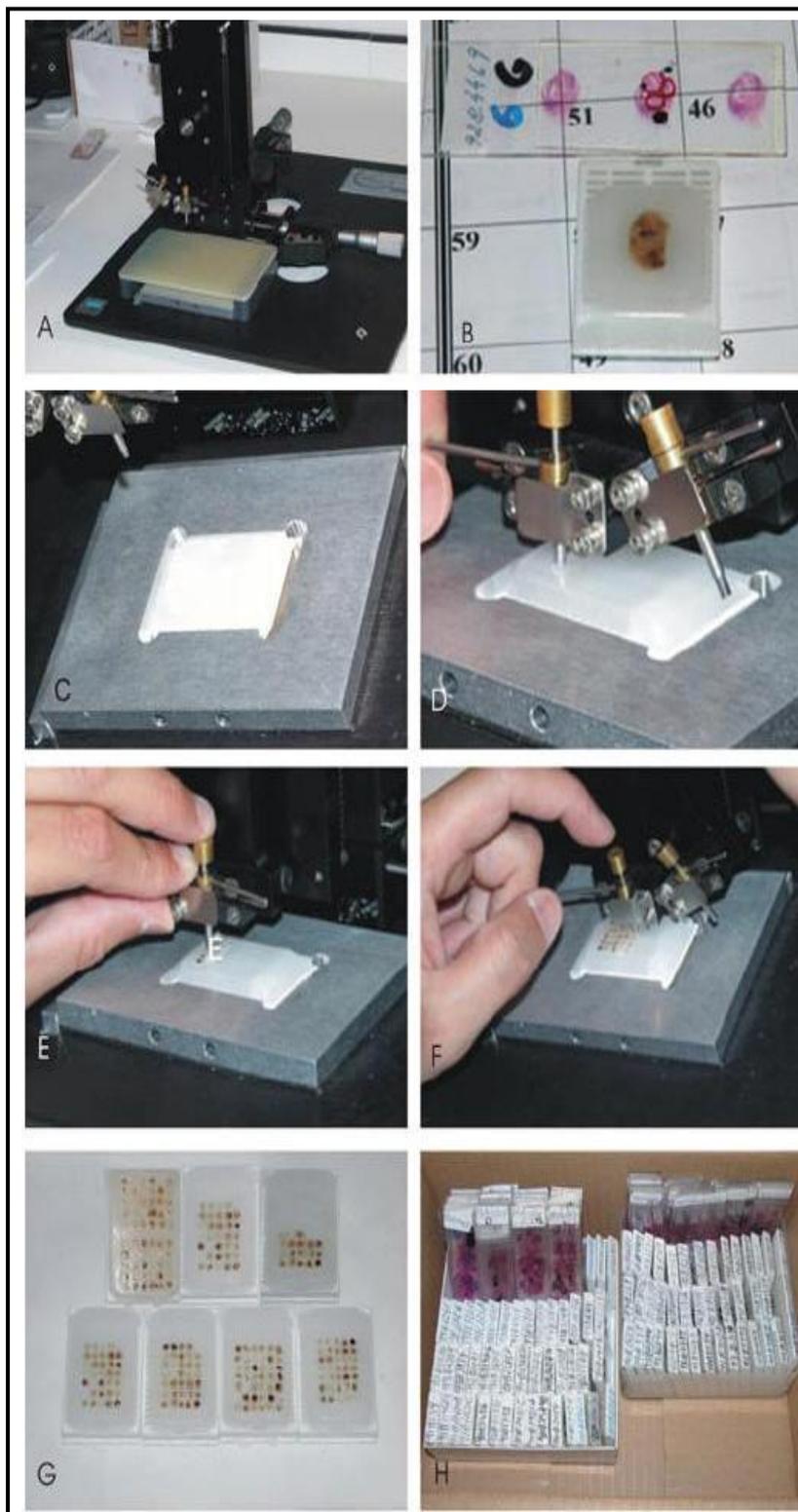


Figura 19. A) Herramienta para construcción de arrays de tejido. B) Bloque parafinado de tejido con hematoxilina-eosina, indicando el punto de interés. C-F) Proceso de construcción del array, retirada de la muestra donante y colocación en el bloque receptor. G) Ejemplos de arrays de tejido. H) Diferentes bloques utilizados para la construcción de un array de tejido.

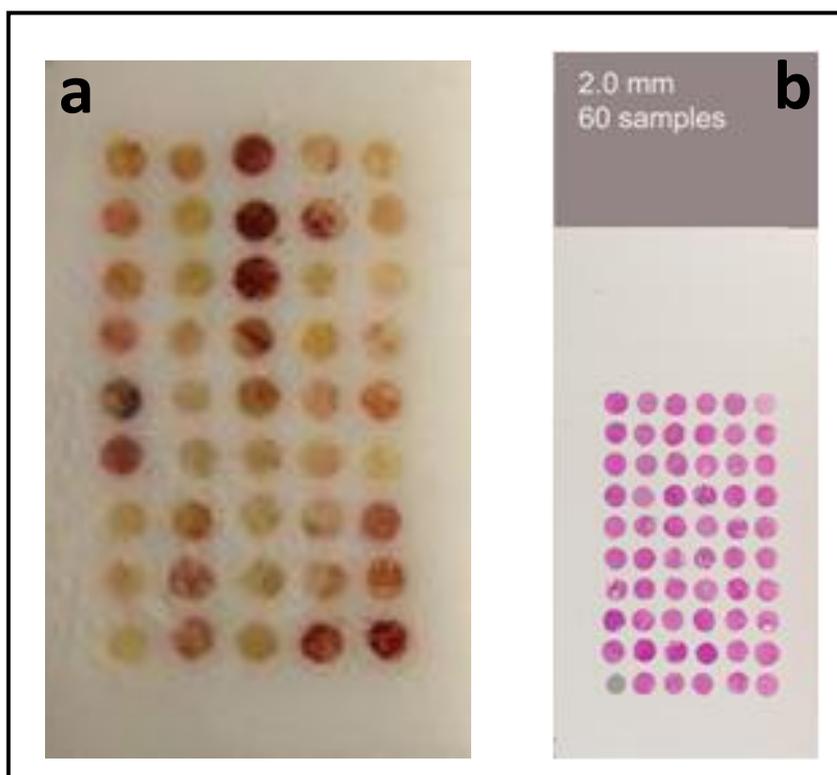


Figura 20. Array de tejido. a) Bloque con cilindros colocados formando el array. b) Corte de array de tejido contrastado con hematoxilina-eosina.

Los 156 casos fueron clasificados y ordenados por subtipo histológico con el fin de construir los arrays. En total se diseñaron 8 arrays, en todos ellos se dispuso cada muestra por duplicado además de casos control. La disposición final de los arrays es: cuatro arrays con un total de 79 casos, de los cuales dos son diferenciación sarcomatoide y 77 son histología convencional; un array con 12 casos de los que siete, son histológicamente cromófobos y cinco variedad convencional, y tres arrays con un total de 65 casos, con 13 casos de tumores de histología convencional, 15 casos de variedad sarcomatoide, 22 de diferenciación papilar y 15 oncocitomas. En la tabla 8 se puede apreciar el número total de casos de cada tipo tumoral.

Tabla 8. Número total de casos.

| TIPO TUMORAL | NÚMERO TOTAL DE MUESTRAS |
|--------------|--------------------------|
| CONVENCIONAL | 95 |
| SARCOMATOIDE | 17 |
| ONCOCITOMA | 15 |
| CROMÓFOBO | 7 |
| PAPILAR | 22 |

3.2. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO

Se realizó el estudio de expresión de los distintos genes, previamente seleccionados mediante análisis por técnicas inmunohistoquímicas.

De cada array construido, se hicieron varios cortes de 3 μm . Todas las técnicas inmunohistoquímicas se llevaron a cabo utilizando la plataforma automatizada BenchMark Ultra (Roche-Ventana, Tucson, Arizona).

El desenmascaramiento antigénico se realizó a la temperatura indicada en la tabla 9, durante 16 minutos empleando como acondicionador celular 1 o 2 (CC1-pH=8 o CC2-pH=6). Las condiciones y características de los anticuerpos utilizados también se detallan en la tabla 9. El revelado de la inmunohistoquímica se realizó con el kit OptiView (Roche-Ventana) siguiendo el protocolo descrito por el fabricante.

Tabla 9. Características de los antígenos utilizados en inmunohistoquímica.

| Nombre antígeno | Casa comercial | Pretratamiento | Tipo anticuerpo | Dilución de uso | Tiempo de Incubación |
|-----------------|--------------------------|---------------------|-------------------|-----------------|----------------------|
| ITGA6 | Sigma (HPA012696) | 95% CC ₂ | Conejo policlonal | 1:100 | 60 minutos |
| ITGA5 | Sigma (HPA002642) | 95%/CC ₂ | Conejo policlonal | 1:200 | 60 minutos |
| PLAUR | Abcam (ab82220) | 98%/CC ₁ | Ratón monoclonal | 1:200 | 60 minutos |
| DSG2 | Sigma (HPA004896) | 95%/CC ₂ | Conejo policlonal | 1:150 | 60 minutos |
| COL11A1 | Oncomatrix (clon 1E8.33) | 98%/CC ₂ | Ratón monoclonal | 1:50 | 32 minutos |

3.3. VALORACIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LAS TÉCNICAS

Para la cuantificación de cada anticuerpo, se ha tenido en cuenta el lugar de expresión de la proteína y el tipo de tumor que se analizaba.

Para la cuantificación de ITGA6, ITGA5 y PLAUR se valoró expresión de membrana en la población de células tumorales, considerándose el porcentaje de células que expresan dicho marcador y su intensidad. El punto de corte establecido fue del 50%, de manera que se consideró positiva cualquier muestra que presentara al menos un marcaje en el 50% de sus células, y negativo cuando el marcaje era menor.

Para el anticuerpo de DSG2, se consideró como positiva la expresión citoplasmática de al menos 50% de las células tumorales presentes en la muestra.

La expresión de COL11A1, a diferencia de los anteriores, no se da en la población tumoral, sino que el inmunomarcaje se observa en el estroma asociado al tumor, en concreto se genera una tinción citoplasmática de los fibroblastos asociados a tumor. La expresión de COL11A1 se consideró positiva con la sola presencia de un fibroblasto positivo, ya que, tal y como describe la literatura²⁰⁰, la expresión de esta molécula es un cambio substancial en la matriz extracelular que posibilita la migración de las células tumorales.

Al estar los arrays contruidos con muestras repetidas de cada paciente, se consideró como positivo cuando al menos una de las dos repeticiones presentaba marcaje positivo. Se consideró como negativa, la ausencia de positividad de ambas repeticiones, o si dicha muestra era nula (por pérdida del material, tejido deshidratado, tejido no tumoral...). Todas las muestras se valoraron con doble observador, siendo supervisadas las cuantificaciones por un patólogo.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para gestionar todos los parámetros clínicos e histopatológicos se generó una tabla utilizando el programa Microsoft Excel 2003.

El estudio estadístico ha sido llevado a cabo utilizando los paquetes estadísticos SPSS versión 20 y GraphPad Prism versión 5.01.

El análisis de la expresión diferencial de las distintas proteínas según diferenciación tumoral, se ha realizado mediante un test de Chi Cuadrado con corrección de Fisher. En todos los casos se consideró una $p < 0,05$ como significativa.

El análisis de supervivencia, (tanto para exitus como para tiempo libre de recidiva) fue llevado a cabo mediante curvas de Kaplan-Meier.

RESULTADOS

A continuación, se exponen los resultados más importantes derivados de este estudio. Además, se presentarán los datos clínico-patológicos más relevantes de la serie utilizada.

1. DESCRIPCIÓN GENERAL DE CASOS

La población objeto de nuestro estudio, se compone de un total de 156 pacientes con diagnóstico de neoplasia renal. Como ya se ha explicado anteriormente, dentro de esta patología, se han seleccionado cinco subtipos histológicos diferentes; de los 156 casos, 95 pacientes con carcinoma de células claras, 17 casos con carcinoma renal de diferenciación sarcomatoide, 15 muestras de oncocitoma, 7 fueron diagnosticados como carcinoma cromóforo y los 22 restantes como carcinomas papilares (figura 21).

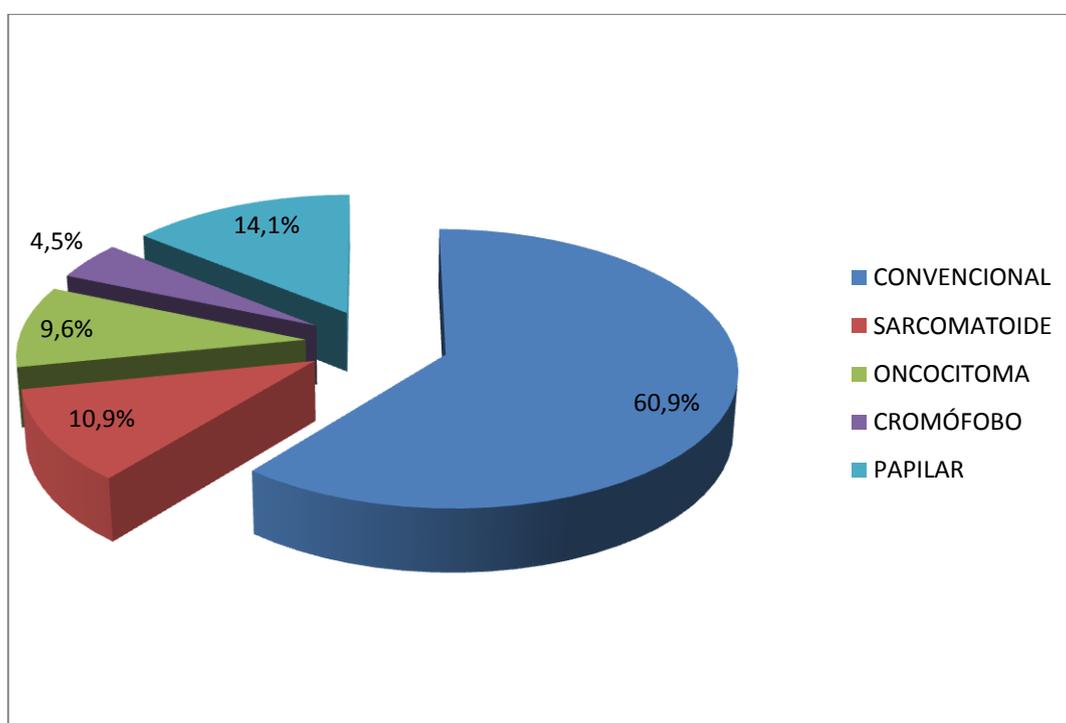


Figura 21. Distribución de los tipos morfológicos de tumor renal en porcentajes.

La distribución de la población atendiendo al sexo y por diferenciación morfológica se muestra en la tabla 10. En total, el número total de varones es de 107 (68,59%), mientras que el de mujeres es de sólo 49 (31,41%), resultando en una prevalencia en varones significativamente mayor que en mujeres, con una relación varón/mujer de 2,1.

Tabla 10. Número de casos de cada tipo tumoral por sexo.

| | MUJER | VARÓN |
|---------------------|-------|-------|
| CONVENCIONAL | 27 | 68 |
| SARCOMATOIDE | 4 | 13 |
| ONCOCITOMA | 8 | 7 |
| CROMÓFOBO | 2 | 5 |
| PAPILAR | 8 | 14 |

En cuanto a la edad, la media de la población fue de 62,13 años, con una mediana de 63 años. El rango de edades en el que más tumores se diagnosticaron fue entre 51 y 70 años. La distribución de los casos por rango de edad en cada subtipo tumoral, muestra un aumento significativo ($p < 0,05$), en los carcinomas cromófobos y oncocitomas en el rango de edad comprendido de 51-60 años (tabla 11).

Tabla 11. Porcentaje de cada tipo tumoral por cada rango de edad.

| | CONVENCIONAL | SARCOMATOIDE | ONCOCITOMA | CROMÓFOBO | PAPILAR |
|-------------------|--------------|--------------|------------|-----------|---------|
| 0-30 AÑOS | 1,05% | 0% | 0% | 0% | 4,54% |
| 31-50 AÑOS | 16,84% | 17,65% | 6,67% | 14,28% | 13,64% |
| 51-60 AÑOS | 22,10% | 23,53% | 46,67% | 42,86% | 18,18% |
| 61-70 AÑOS | 31,58% | 29,41% | 26,67% | 28,57% | 27,27% |
| 71-80 AÑOS | 27,38% | 29,41% | 13,33% | 14,28% | 22,73% |
| 81-90 AÑOS | 1,05% | 0% | 6,67% | 0% | 13,64% |

En la figura 22, se presentan los porcentajes relativos (número de casos/casos por cada rango) de cada tumor por cada rango de edad. Se observa un predominio del carcinoma convencional en todos los rangos de edad, exceptuando a partir de los 80 años en los que predomina el carcinoma papilar.

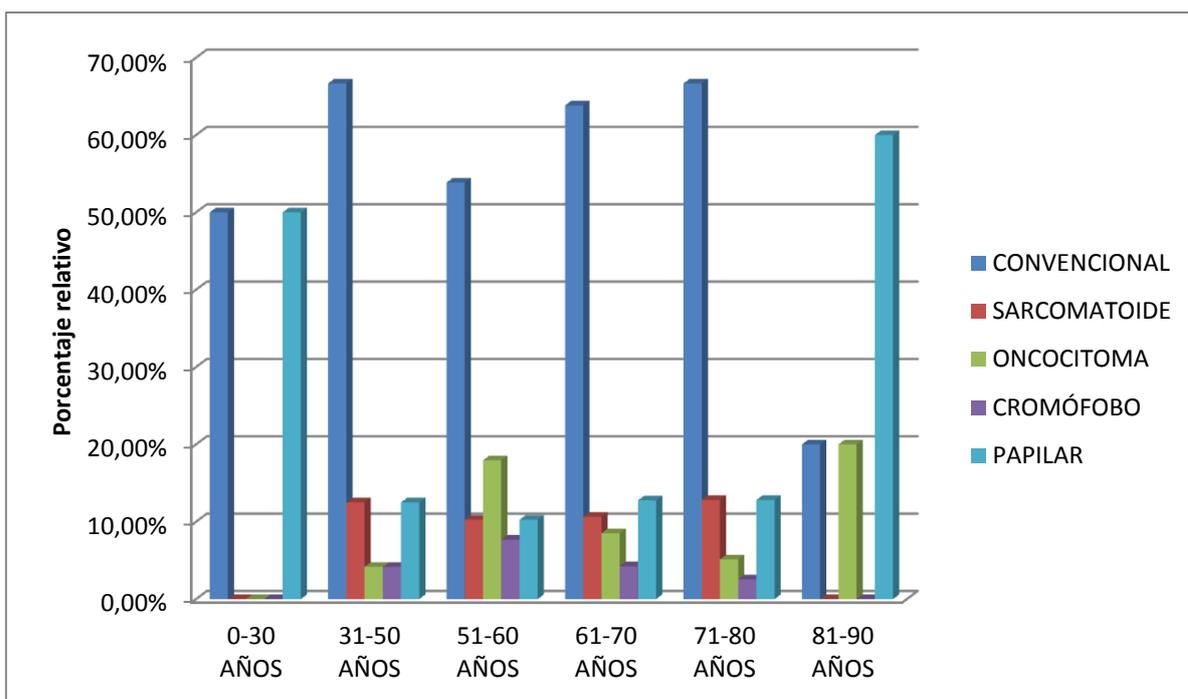


Figura 22. Porcentaje relativo de cada tipo tumoral por rango de edad.

En cuanto a la localización del tumor renal no se encontraron diferencias significativas respecto a la lateralidad, siendo 79 casos detectados en el riñón derecho y 74 en el riñón izquierdo (figura 23). En los tres casos restantes, no dispusimos de información para determinar la ubicación del tumor en el momento de su resección.

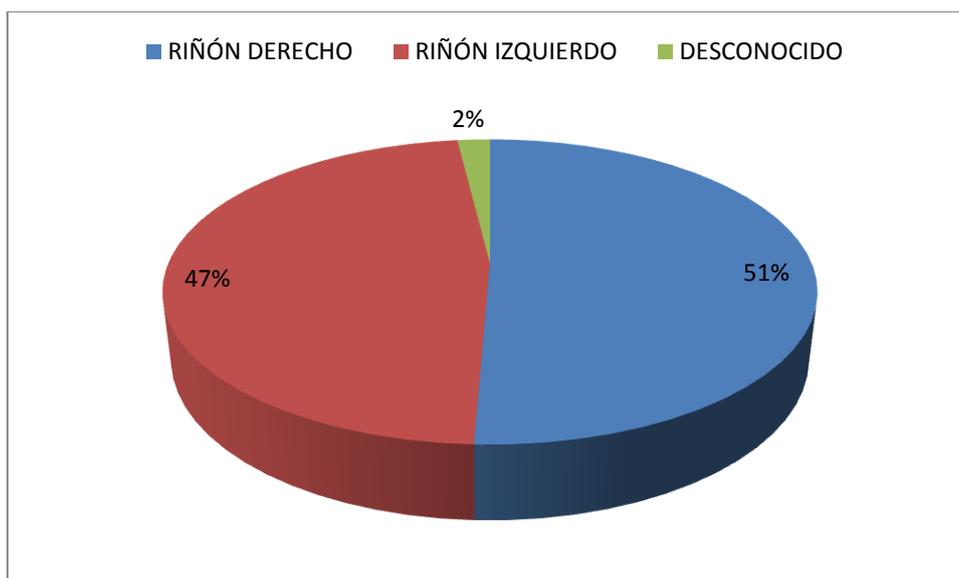


Figura 23. Porcentaje de casos según la lateralidad del tumor.

La tabla 12, presenta los datos de la localización del tumor en cada subtipo tumoral. El análisis estadístico de estos datos, demuestra que no existe diferencia significativa en cuanto a localización del tumor, en los distintos subtipos histológicos.

Tabla 12. Lateralidad en cada subtipo tumoral.

| | DERECHO | IZQUIERDO | DESCONOCIDO |
|---------------------|----------------|------------------|--------------------|
| CONVENCIONAL | 49 | 44 | 2 |
| SARCOMATOIDE | 6 | 10 | 1 |
| ONCOCITOMA | 9 | 6 | 0 |
| CROMÓFOBO | 3 | 4 | 0 |
| PAPILAR | 12 | 10 | 0 |

Atendiendo a su estadiaje en el momento del diagnóstico, el carcinoma de células claras presenta un mayor número de casos en estadio III, con un 37,89 % de los casos y un menor número de ellos en estadio IV, con un 4,21% de casos de dicho tumor.

La diferenciación sarcomatoide predomina su diagnóstico en el estadio III y IV, con un 47,06% y un 35,29% de eventos respectivamente. En cambio en estadio I es donde existen menos casos, con un 5,88% de los pacientes con dicho tumor.

Referente a los oncocitomas, no existe ningún caso en estadio IV y donde más diagnósticos de dicho tumor hay, es en estadio II con un 46,67% de dichos tumores.

La variedad cromófoba, donde más se concentran los pacientes es en el estadio I, con un 57,14% de dichos tumores y ningún caso en estadio IV. Al igual que el carcinoma papilar, que no presenta ningún caso en estadio IV y donde más pacientes tenemos, es en el estadio I con un 40,91%.

En la tabla 13, se representa el número de casos y su porcentaje de cada tumor en cada estadio tumoral.

Tabla 13. Número de casos de cada tipo histológico y su estadio clínico.

| | ESTADIO I | ESTADIO II | ESTADIO III | ESTADIO IV |
|---------------------|------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| CONVENCIONAL | 31 / 32,63% | 24 / 25,26% | 36 / 37,89% | 4 / 4,21% |
| SARCOMATOIDE | 1 / 5,88% | 2 / 11,76% | 8 / 47,06% | 6 / 35,29% |
| ONCOCITOMA | 5 / 33,33% | 7 / 46,67% | 3 / 20% | 0 |
| CROMÓFOBO | 4 / 57,14% | 1 / 14,29% | 2 / 28,57% | 0 |
| PAPILAR | 9 / 40,91% | 6 / 27,27% | 7 / 31,82% | 0 |

2. SUPERVIVENCIA

Con el fin de determinar la validez de la serie estudiada, se realizó un estudio de supervivencia comparando los distintos subtipos histológicos de tumor renal, con el fin de compararlo con la bibliografía sobre el tema.

Para poder homogeneizar los resultados, se realizó la estadística únicamente con los primeros nueve años de seguimiento, ya que de los últimos casos admitidos para el estudio sólo se tenían datos de ese periodo.

La figura 24 presenta la curva de Kaplan Meier para la supervivencia de los pacientes durante dicho periodo de tiempo.

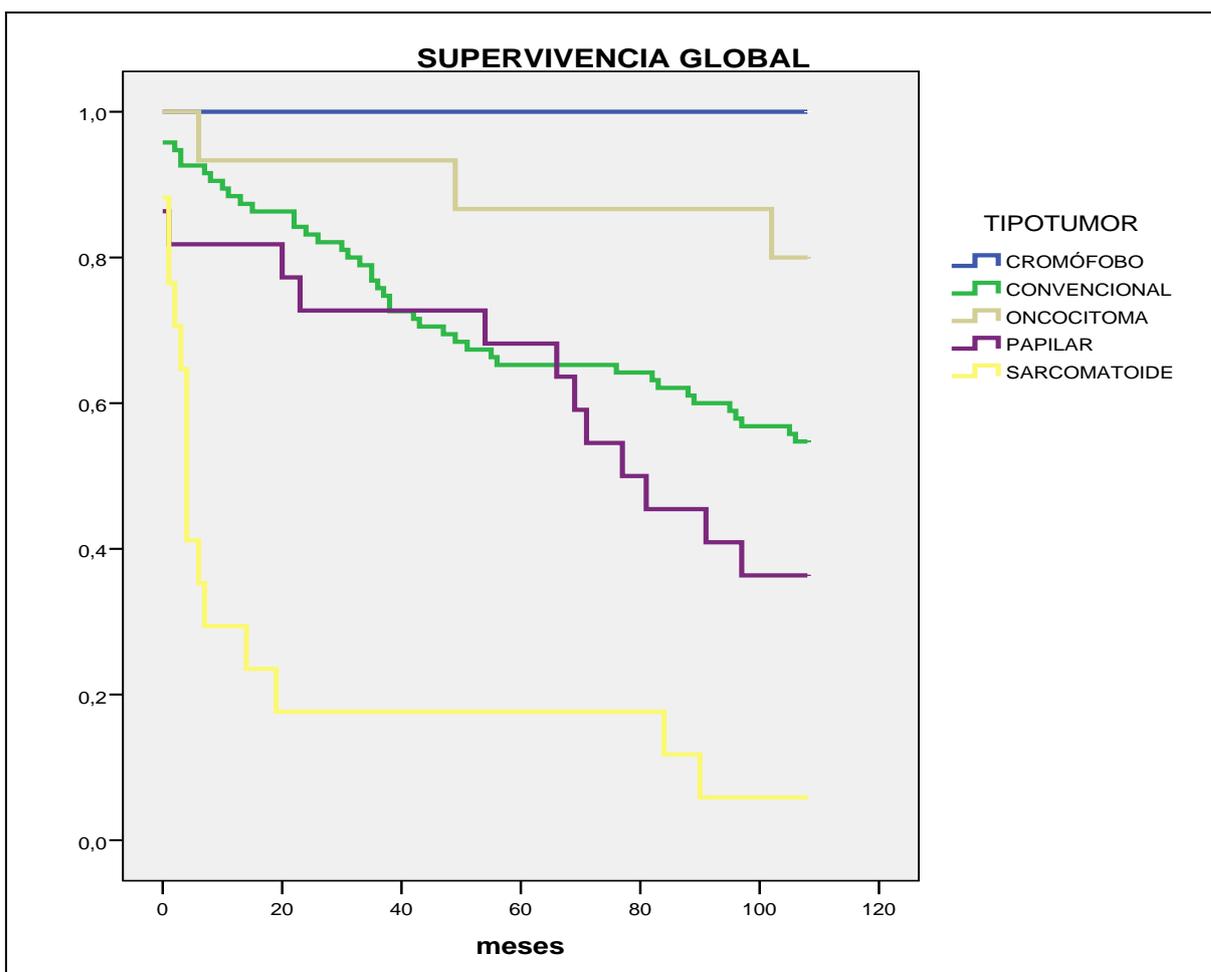


Figura 24. Supervivencia global de cada tipo de cáncer renal en los primeros 9 años.

Como es conocido, la variante sarcomatoide es la que más defunciones provoca, en el polo opuesto se encuentran los oncocitomas y carcinoma cromóforo, con menos números de muertes de causa general.

Cuando nos centramos en la supervivencia atendiendo a muertes causadas exclusivamente por neoplasia renal diagnosticada, se observa de igual manera, que la morfología sarcomatoide de los tumores renales es la de comportamiento más agresivo (figura 25).

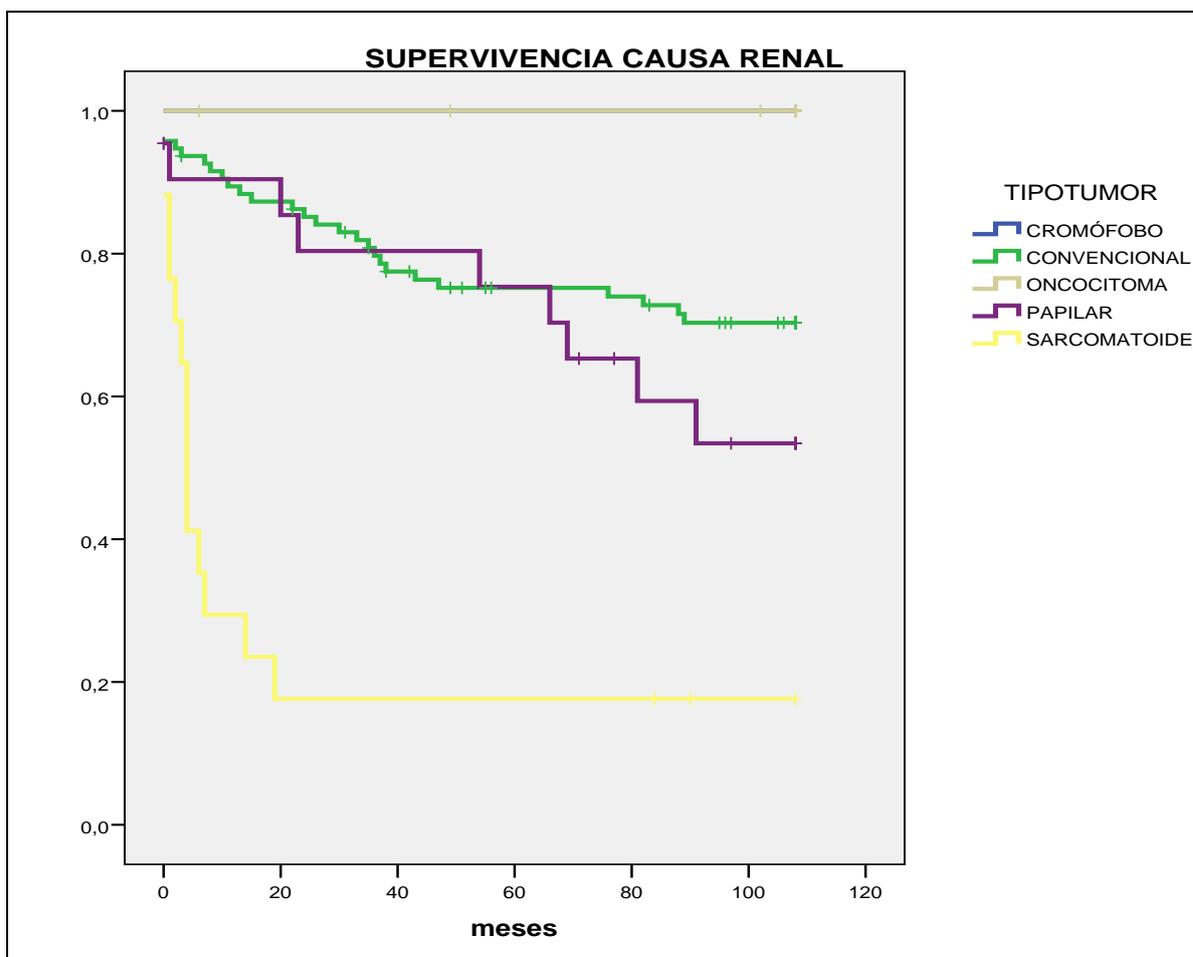


Figura 25. Supervivencia a 9 años teniendo en cuenta únicamente causas de mortalidad asociadas a la neoplasia renal.

La siguiente tabla (tabla 14), resume los datos de muertes totales por cada subtipo histológico. Además, se presentan los porcentajes de pacientes libres de enfermedad (vivos), tras los primeros 9 años después del diagnóstico.

Tabla 14. Progresión de la enfermedad por causa renal.

| | Muerte por causa renal | Porcentajes de muertes | Porcentaje libres de enfermedad |
|---------------------|------------------------|------------------------|---------------------------------|
| CONVENCIONAL | 27 | 28,42% | 71,57% |
| SARCOMATOIDE | 14 | 82,35% | 17,65% |
| ONCOCITOMA | 0 | 0% | 100% |
| CROMÓFOBO | 0 | 0% | 100% |
| PAPILAR | 9 | 40,91% | 59,09% |

Se analizó, asimismo, la muerte asociada a otro tipo de patología tumoral no ligada con el primer diagnóstico de cáncer renal. De los 156 casos analizados, solo el 5,77% de los pacientes fallecieron a causa de otra neoplasia. No existen diferencias significativas para la asociación de los distintos subtipos de cáncer renal y la muerte debida a otro tipo tumoral. En la tabla 15, se exponen los datos divididos, según la histología del tumor renal.

Tabla 15. Muertes debidas a otra neoplasia.

| | Muertes por otro cáncer | Porcentajes de muertes | Porcentaje libres de enfermedad |
|---------------------|--------------------------------|-------------------------------|--|
| CONVENCIONAL | 7 | 7,37% | 92,63% |
| SARCOMATOIDE | 1 | 5,88% | 94,12% |
| ONCOCITOMA | 0 | 0% | 100% |
| CROMÓFOBO | 0 | 0% | 100% |
| PAPILAR | 1 | 4,55% | 95,45% |

En cuanto a las defunciones debidas a otra causa distinta a la neoplásica, el subtipo tumoral que más muertes presentó durante el periodo de estudio, fue el oncocitoma, con el 20% de los casos diagnosticados fallecidos por otra causa no tumoral. En la figura 26, a simple vista, erróneamente parece ser la variedad sarcomatoide pero analizando dicha figura, vemos que la defunción de pacientes debido a otras causas sucede con posterioridad a la pérdida (censurado) de múltiples pacientes (en este caso son 15) por causa tumoral *per se*, por lo que aparenta una pérdida del 50% al haber sólo 2 pacientes.

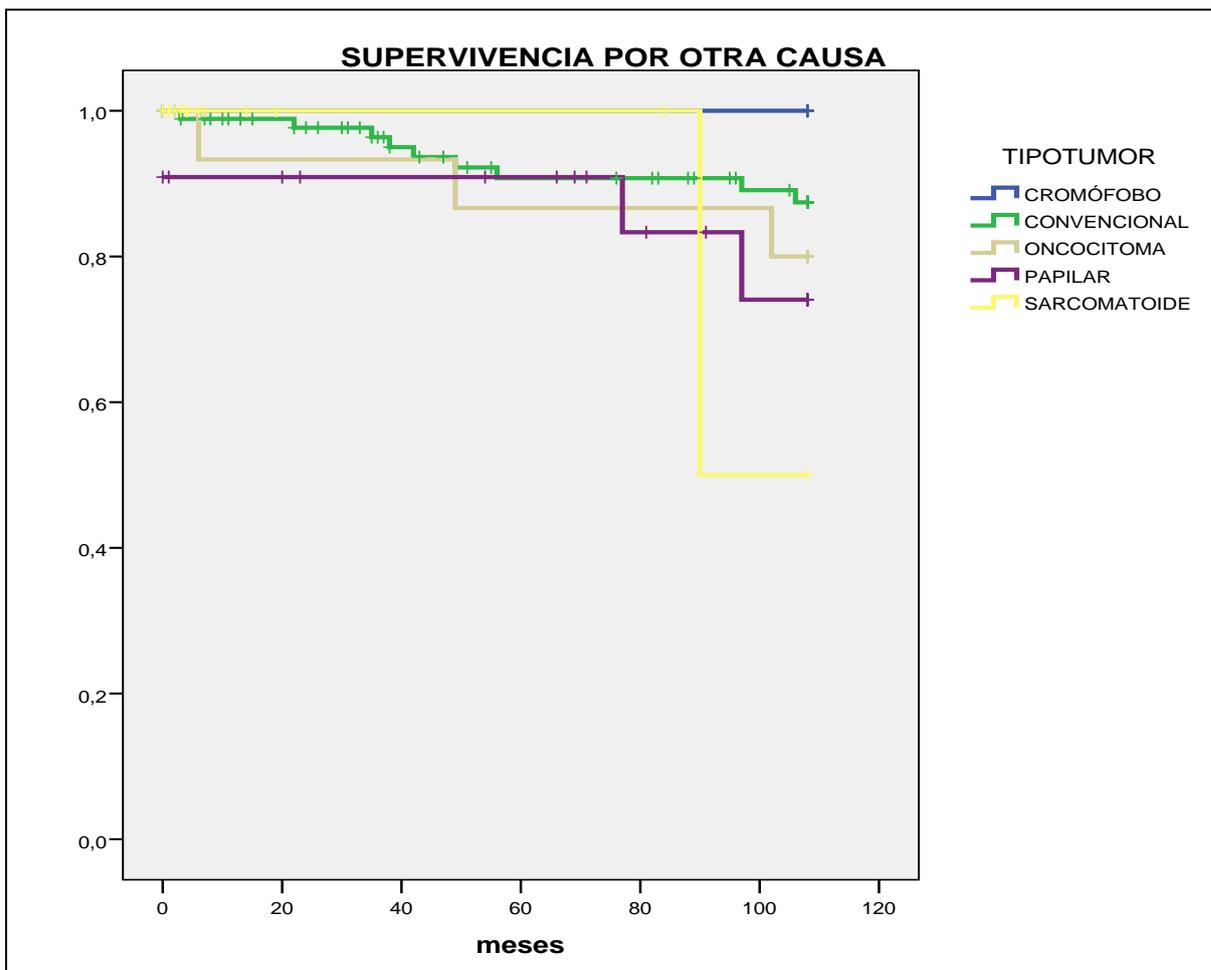


Figura 26. Gráfica de Kaplan-meier, representa defunción a los 9 años por otra causa distintas al tumor primario o a cualquier otra patología neoplásica.

3. ANÁLISIS DE LOS MARCADORES TUMORALES

A continuación se detallan los principales resultados del estudio inmunohistoquímico de los cinco marcadores seleccionados. Se hará un resumen de los datos obtenidos de cada subtipo histológico de carcinoma renal.

ITGA6. Integrin alpha 6.

La ITGA6 participa en la adhesión celular, y está implicado en el mecanismo de desdiferenciación celular en el cáncer. El análisis del

inmunomarcaje de la integrina alfa 6, mostró un patrón de expresión del 14,29% de los tumores convencionales, en los tumores sarcomatoides el marcaje positivo fue del 16,67%, en los tumores con histología de oncocitoma el 7,14% resultaron positivos, mientras que el 42,86% y el 57,14% de tumores cromóforos y papilares respectivamente presentaron expresión positiva para ITGA6 (figura 27 a y b). En la tabla 16, se muestra la distribución general de expresión de ITGA6 en los distintos casos.

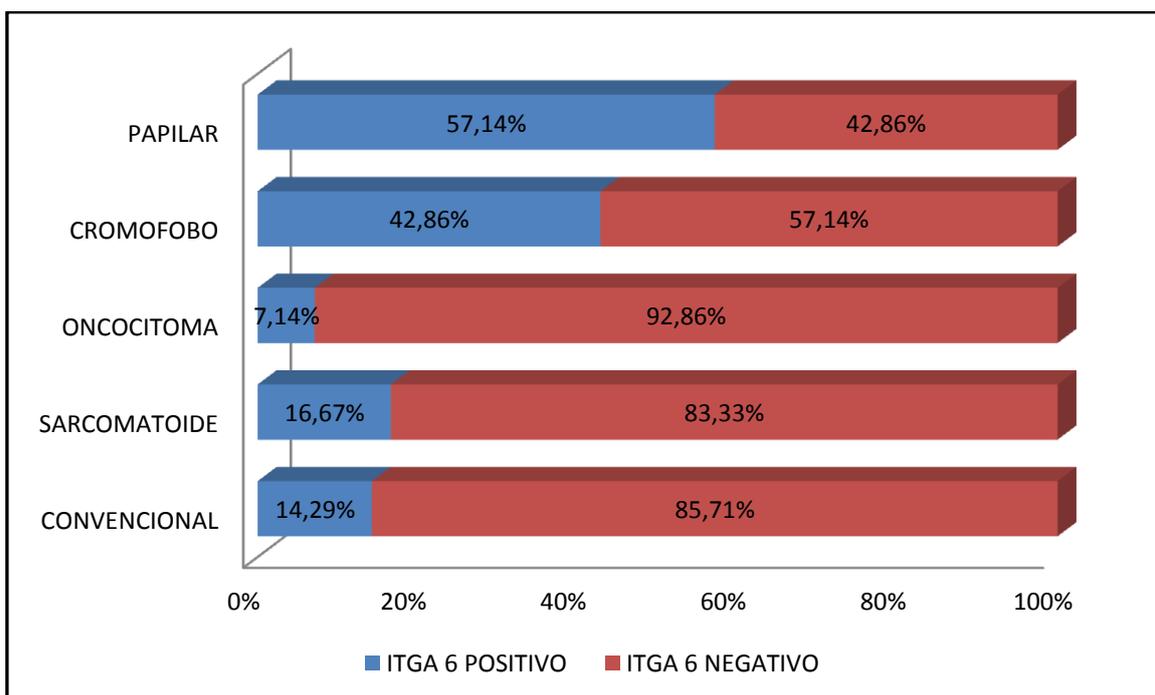


Figura 27a. Porcentaje de expresión por inmunohistoquímica anti ITGA6 para todos los subtipos histológicos de tumor renal estudiados.

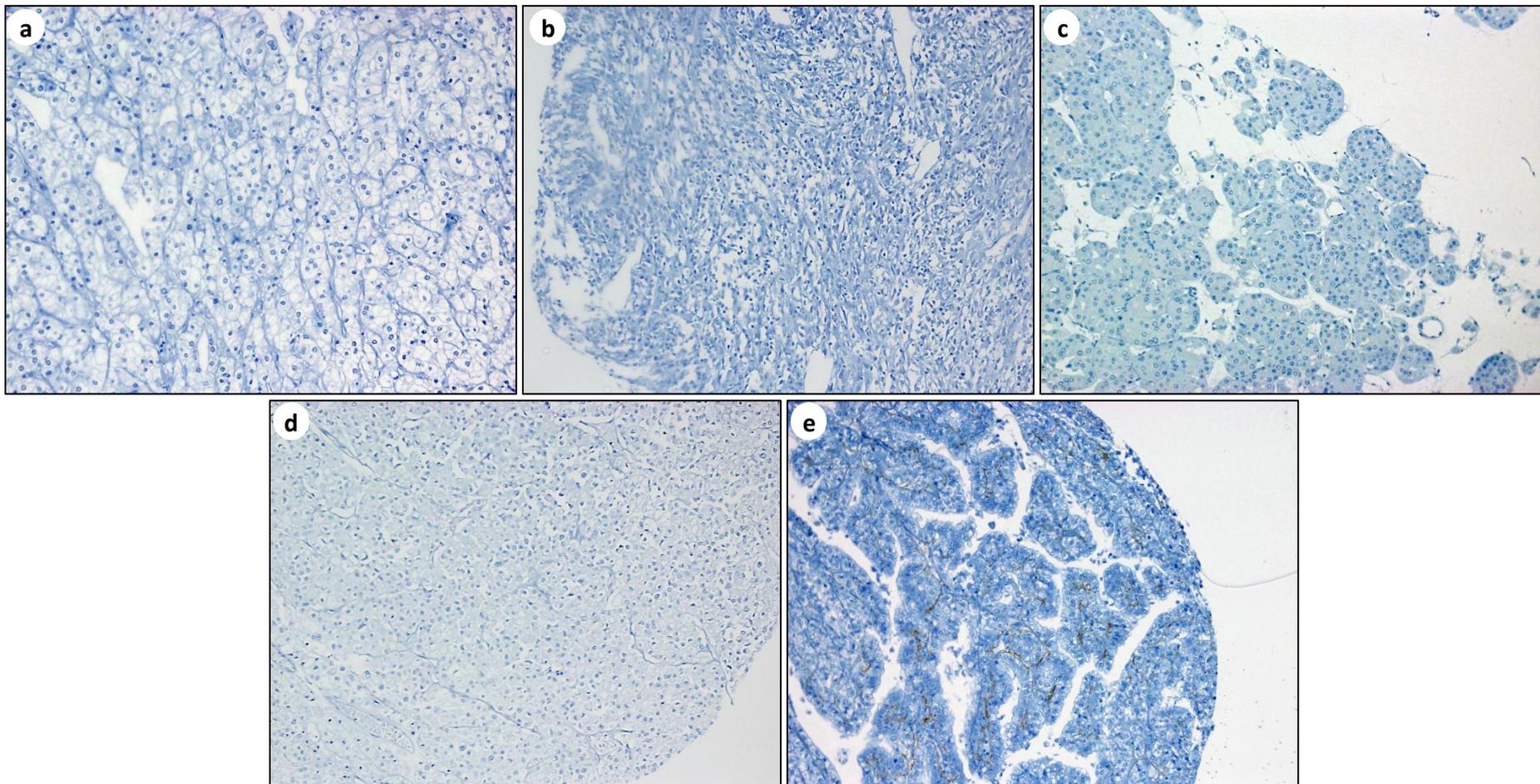


Figura 27b. Inmunotinción para ITGA6, a) Convencional, b)Sarcomatoide, c) Oncocitoma, d) Cromofobo y e) papilar

Tabla 16. Número de casos del marcador clasificados por la expresión ITGA6.

| | ITGA6 POSITIVO | ITGA6 NEGATIVO | NO VÁLIDOS |
|---------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------|
| CONVENCIONAL | 12 | 72 | 11 |
| SARCOMATOIDE | 2 | 10 | 5 |
| ONCOCITOMA | 1 | 13 | 1 |
| CROMOFOBO | 3 | 4 | 0 |
| PAPILAR | 12 | 9 | 1 |

El análisis estadístico de los resultado de la expresión de ITGA6, muestra una diferencia significativa ($p=0,0002$) entre los distintos tipos histológicos de carcinoma renal. En el test *post hoc* realizado, se evidenciaron diferencias significativas entre el carcinoma papilar y convencional ($p=0,0001$), entre el papilar y el oncocitoma ($p=0,0039$) y entre el carcinoma papilar y el tipo sarcomatoide ($p=0,0328$). El resto de las comparaciones entre los distintos tipos de tumores renales, no resultaron significativamente diferentes.

El análisis de supervivencia del marcador ITGA6, muestra que no existe una asociación directa entre la expresión de dicho marcador y la supervivencia (figura 28).

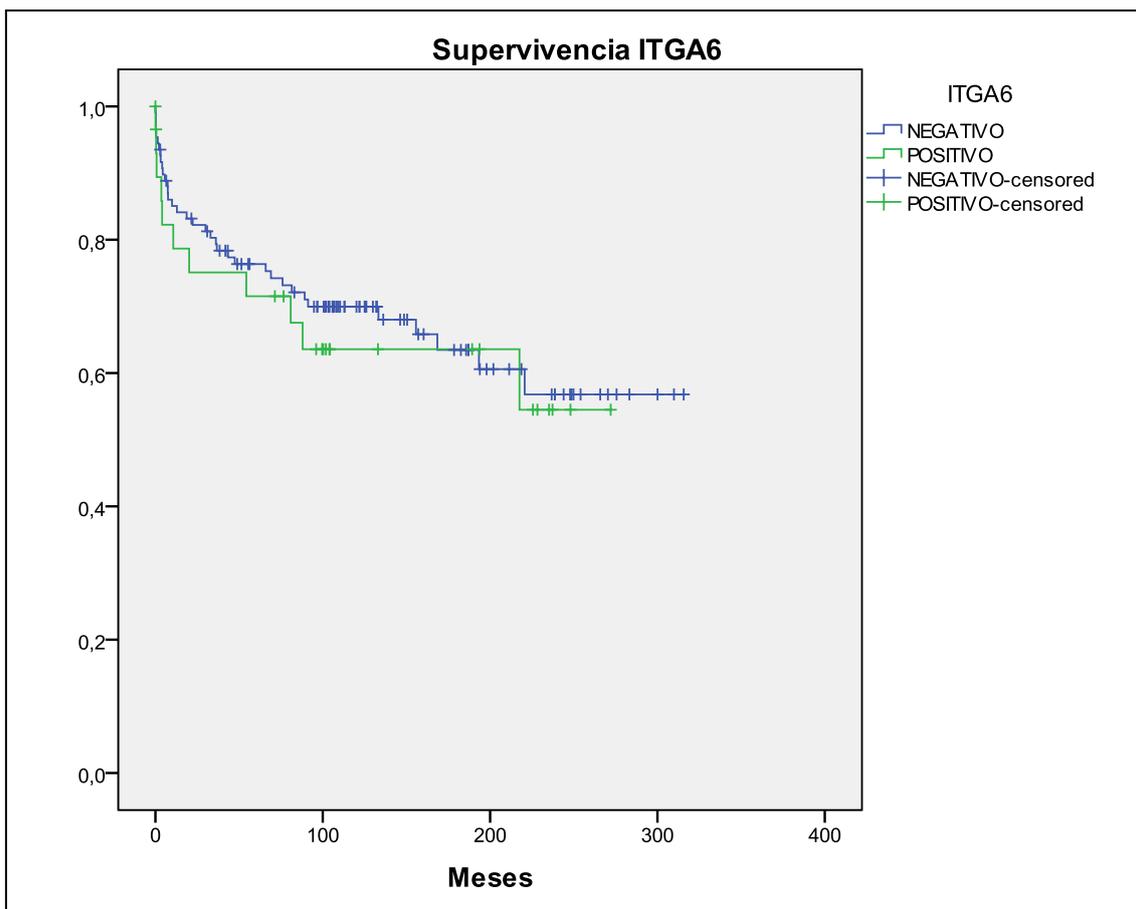


Figura 28. Gráfica de supervivencia de ITGA6.

ITGA5. Integrin alpha 5.

La ITGA5 es una integrina que se une a la matriz de macromoléculas y proteinasas y estimula la angiogénesis. El estudio de la expresión de esta proteína, dio como resultado un 72,73% de casos positivos en la diferenciación sarcomatoide, mientras que el carcinoma cromóforo presentó expresión en un 66,67%. Sin embargo, el inmunomarcaje para el carcinoma convencional y el papilar fue muy reducido (19,51% y 33,33% respectivamente) o incluso nulo, como en el caso del oncocitoma, en el que la totalidad de los casos fueron negativos. (Tabla 17, figura 29 a y b).

Tabla 17. Número de casos del marcador clasificados por la expresión ITGA5.

| | ITGA5 POSITIVO | ITGA5 NEGATIVO | NO VÁLIDO |
|--------------|-------------------|-------------------|-----------|
| CONVENCIONAL | 16 | 66 | 13 |
| SARCOMATOIDE | 8 | 3 | 6 |
| ONCOCITOMA | 0 | 13 | 2 |
| CROMÓFOBO | 4 | 2 | 1 |
| PAPILAR | 7 | 14 | 1 |

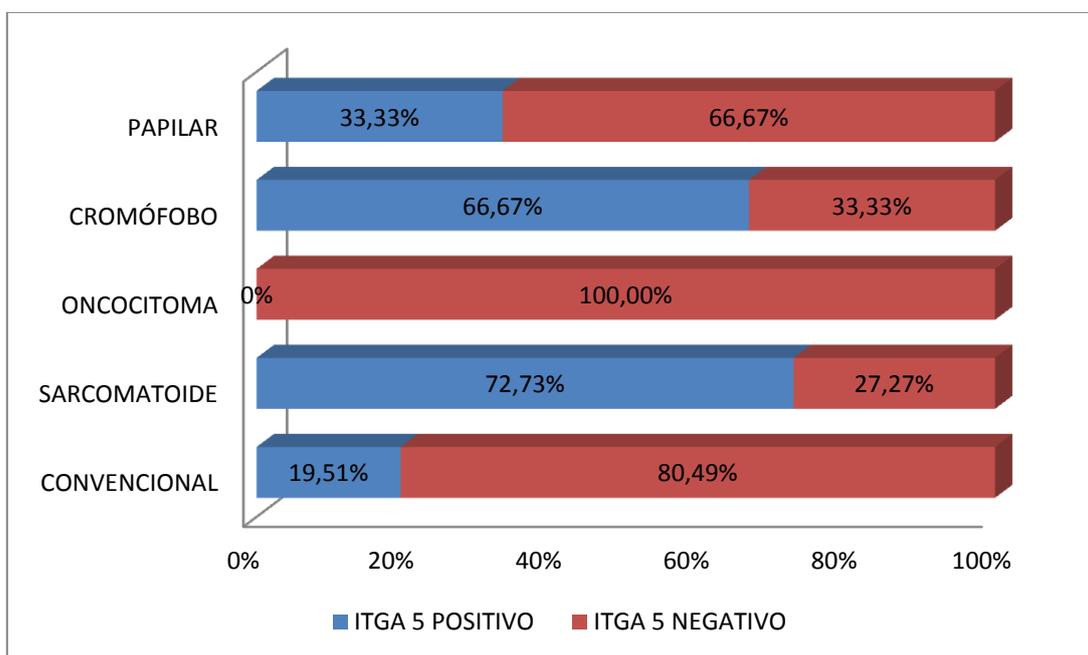


Figura 29a. Porcentajes de expresión por inmunohistoquímica antiITGA5 para todos los subtipos histológicos de tumor renal estudiados.

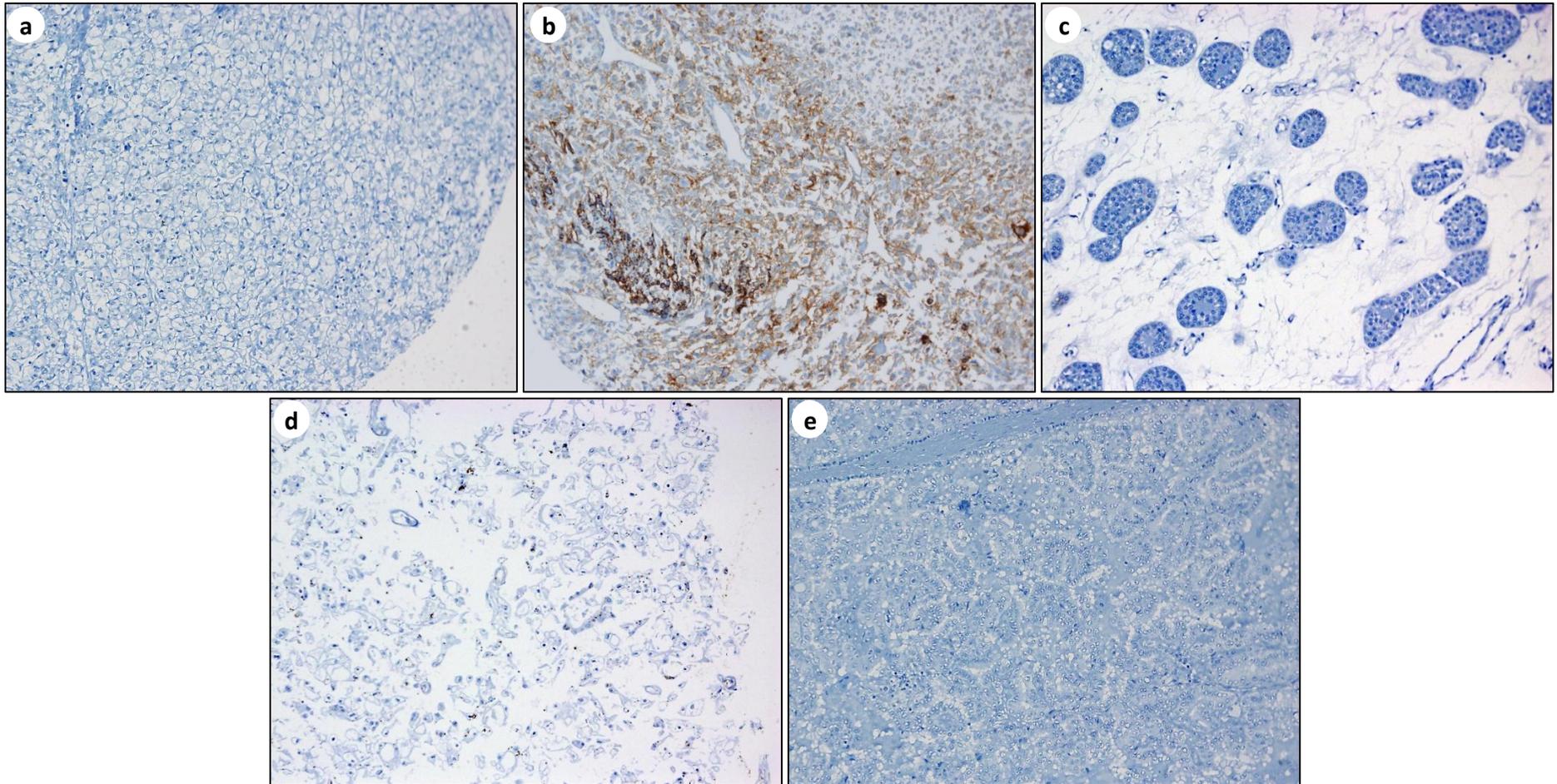


Figura 29b. Inmunotinción para ITGA5, a) Convencional, b)Sarcomatoide, c) Oncocitoma, d) Cromofobo y e) papilar

El análisis estadístico de los datos presentados, demostró una expresión diferencial significativa ($p < 0,0001$). La comparación *post hoc* completa para todas las combinaciones entre los distintos subtipos de cáncer renal se presenta en la tabla 18.

Tabla 18. Comparación de la expresión de ITGA5 de tumores renales.

| ITGA5 | CONV | SARCOM | ONCOCI | CROMÓF | PAP |
|---------------------|-------------|---------------|---------------|---------------|------------|
| CONVENCIONAL | | | | | |
| SARCOMATOIDE | 0,0007 | | | | |
| ONCOCITOMA | 0,0807 | 0,0002 | | | |
| CROMÓFOBO | 0,0224 | 1,0000 | 0.0009 | | |
| PAPILAR | 0,2386 | 0,0617 | 0,0195 | 0,1874 | |

La expresión de este marcador, muestra una menor tasa de supervivencia por causa renal, significativa ($p=0,007$) al comparar los pacientes con inmunotinción positiva para ITGA5 con aquellos negativos (figura 30).

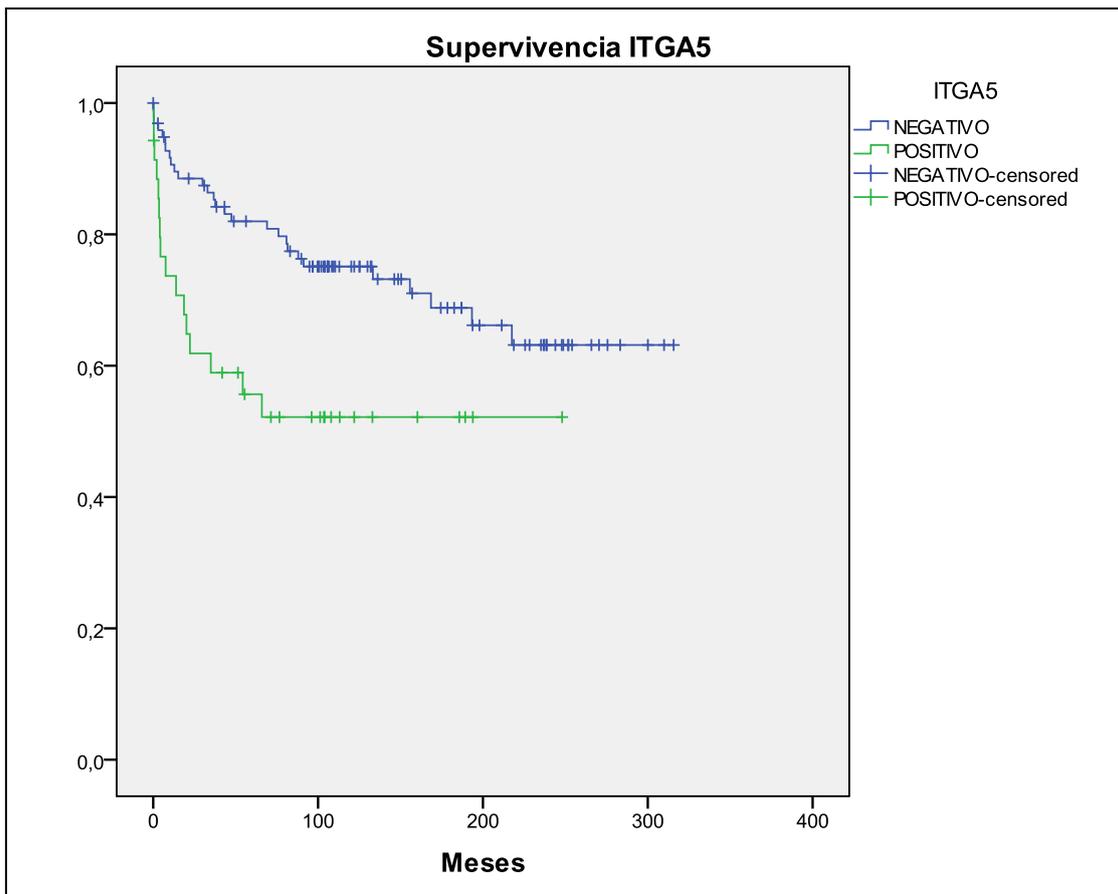


Figura 30. Gráfica de supervivencia de ITGA5.

DSG2. Desmoglein 2.

La desmogleína es una proteína de membrana que está vinculada a la unión estrecha de las células. El estudio mediante inmunohistoquímica de esta proteína, resultó en una positividad del 81,82% de los oncocitomas, el 76,19% de las muestras de variante papilar, el 53,85% de los carcinomas sarcomatoides y el 71,43% los carcinomas cromófobos. Sin embargo, el carcinoma convencional presentó un porcentaje menor de inmunomarcaje, siendo positivo sólo el 39,51% de los casos estudiados (Tabla 19, Figura 31 a t b).

Tabla 19. Número de casos del marcador clasificados por la expresión DSG2.

| | DSG2 POSITIVO | DSG2 NEGATIVO | NO VÁLIDOS |
|--------------|------------------|------------------|---------------|
| CONVENCIONAL | 32 | 49 | 14 |
| SARCOMATOIDE | 7 | 6 | 4 |
| ONCOCITOMA | 9 | 2 | 4 |
| CROMÓFOBO | 5 | 2 | 0 |
| PAPILAR | 16 | 5 | 1 |

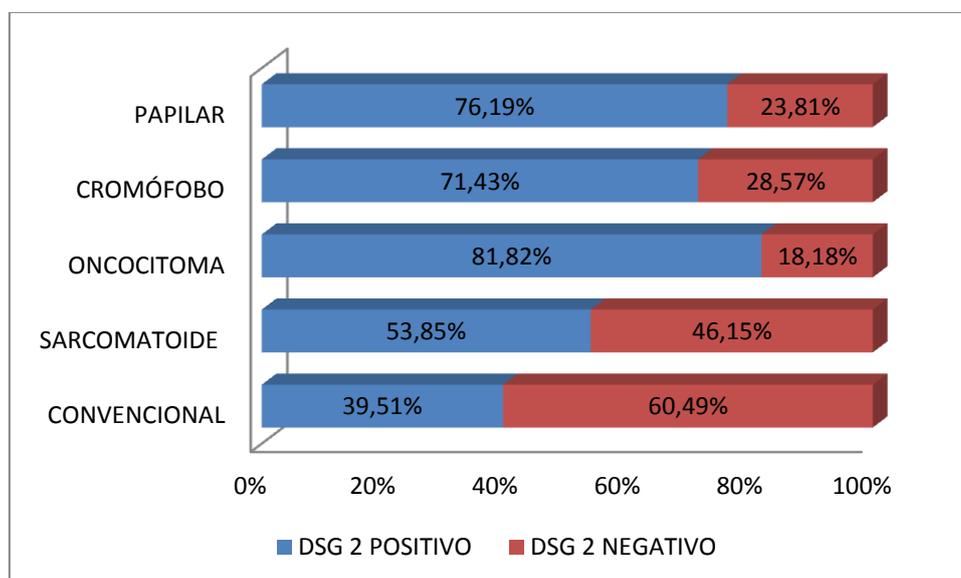


Figura 31a. Porcentaje de expresión por inmunohistoquímica anti DSG2 para todos los subtipos histológicos de tumor renal estudiados.

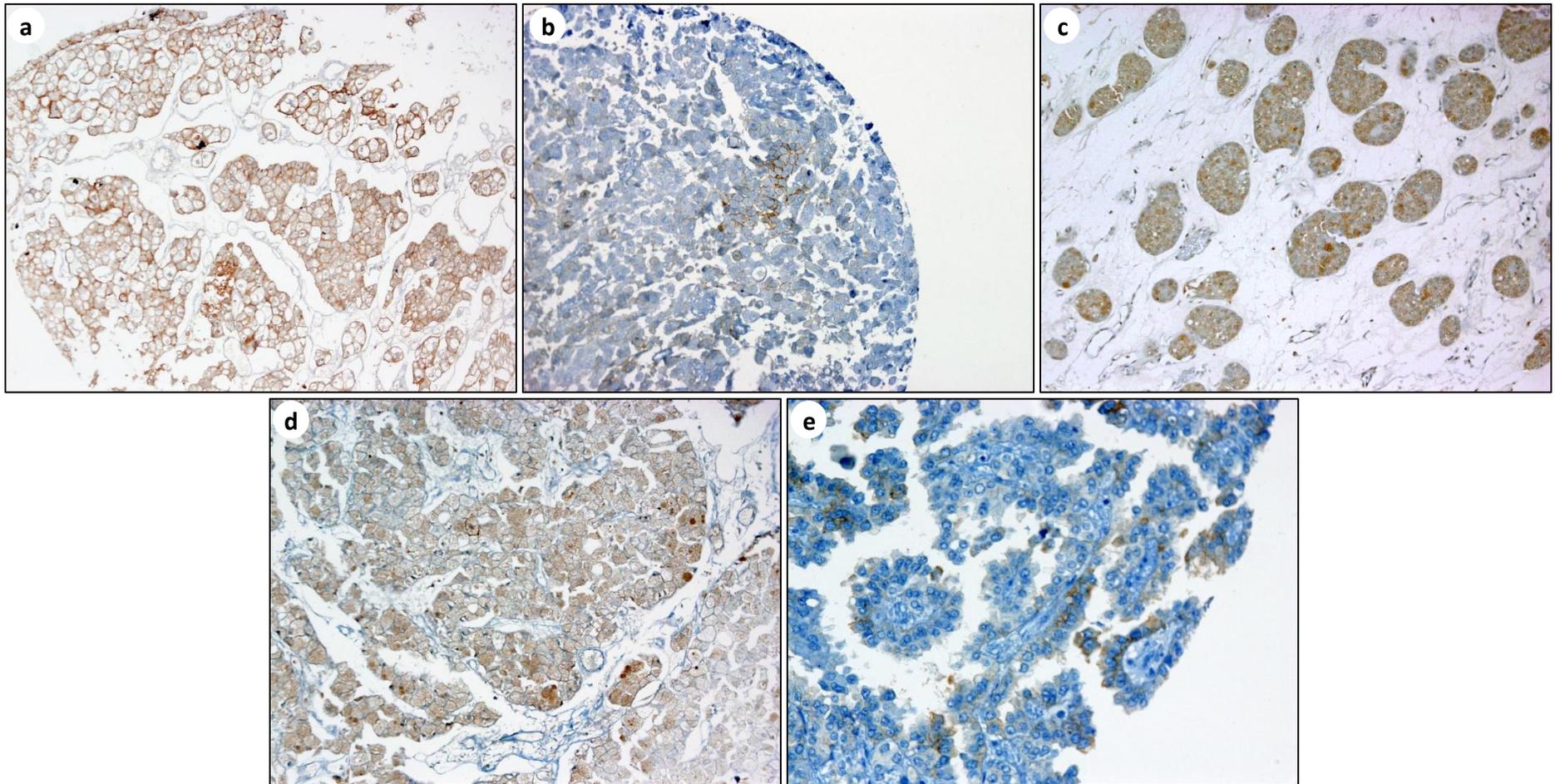


Figura 31b. Inmunotinción para DSG2, a) Convencional, b)Sarcomatoide, c) Oncocitoma, d) Cromofobo y e) papilar

Al comparar el carcinoma convencional con el oncocitoma, la expresión diferencial de DSG2 mostró una diferencia significativa ($p=0,0103$), al igual que en la comparativa entre la variante papilar y el carcinoma convencional ($p=0,0033$), donde la diferencia es muy significativa. El grado de expresión del resto de las variantes no reportaron resultados estadísticamente significativas.

La expresión de este marcador no se asoció con una tasa de supervivencia diferencial entre los casos positivos y negativos (figura 32).

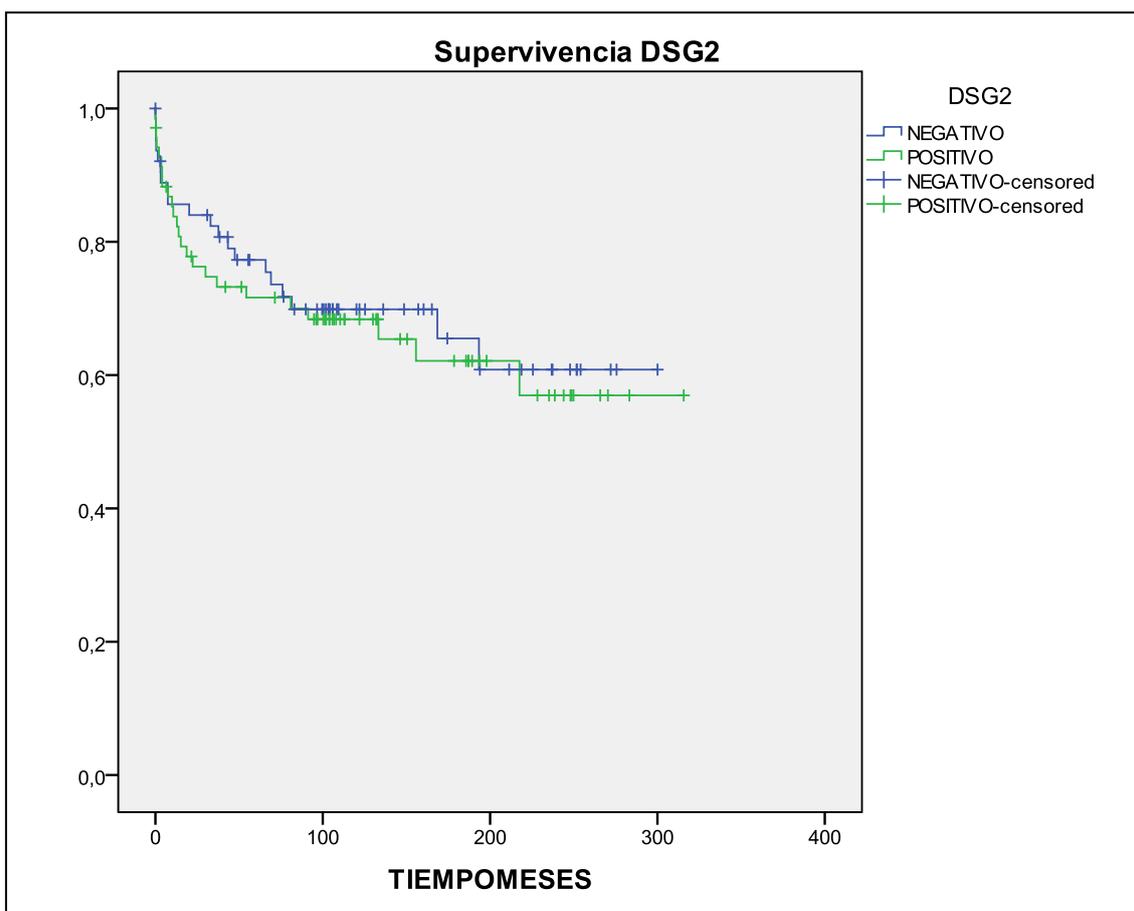


Figura 32. Gráfica de supervivencia del marcador DSG2.

COL11A1. Collagen XI, alpha 1.

La presencia de COL11A1 se asocia con la malignización de los tumores epiteliales, ayudando en la migración. Su expresión analizada mediante inmunohistoquímica, demostró un aumento muy significativo ($p<0,0001$) en la variedad sarcomatoide comparada con el resto de subtipos histológicos de carcinoma renal. Un 73,33% de los casos de carcinoma sarcomatoide

resultaron positivos. Sin embargo, la expresión de las otras variedades morfológicas, no superaron el 20% de casos positivos (tabla 20, figura 33 a y b).

Tabla 20. Número de casos del marcador clasificados por la expresión COL11A1.

| | COL POSITIVO | COL NEGATIVO | NO VÁLIDOS |
|--------------|--------------|--------------|------------|
| CONVENCIONAL | 15 | 70 | 10 |
| SARCOMATOIDE | 11 | 4 | 2 |
| ONCOCITOMA | 1 | 12 | 2 |
| CROMÓFOBO | 0 | 7 | 0 |
| PAPIPLAR | 4 | 18 | 0 |

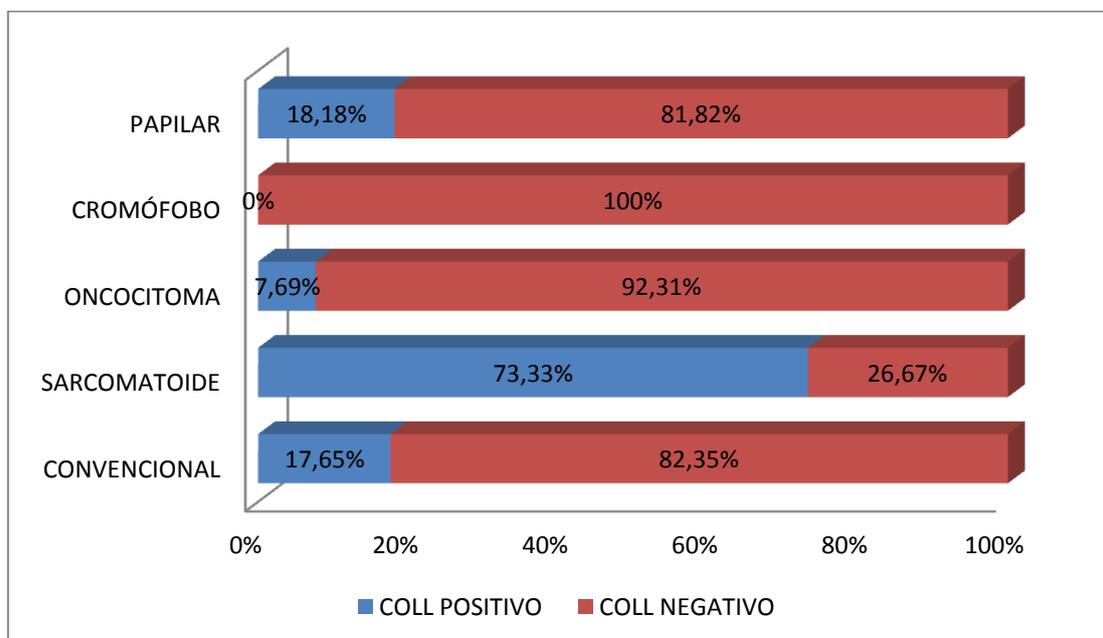


Figura 33a. Porcentaje de expresión por inmunohistoquímica anti COL11A1 para todos los subtipos histológicos de tumor renal estudiados.

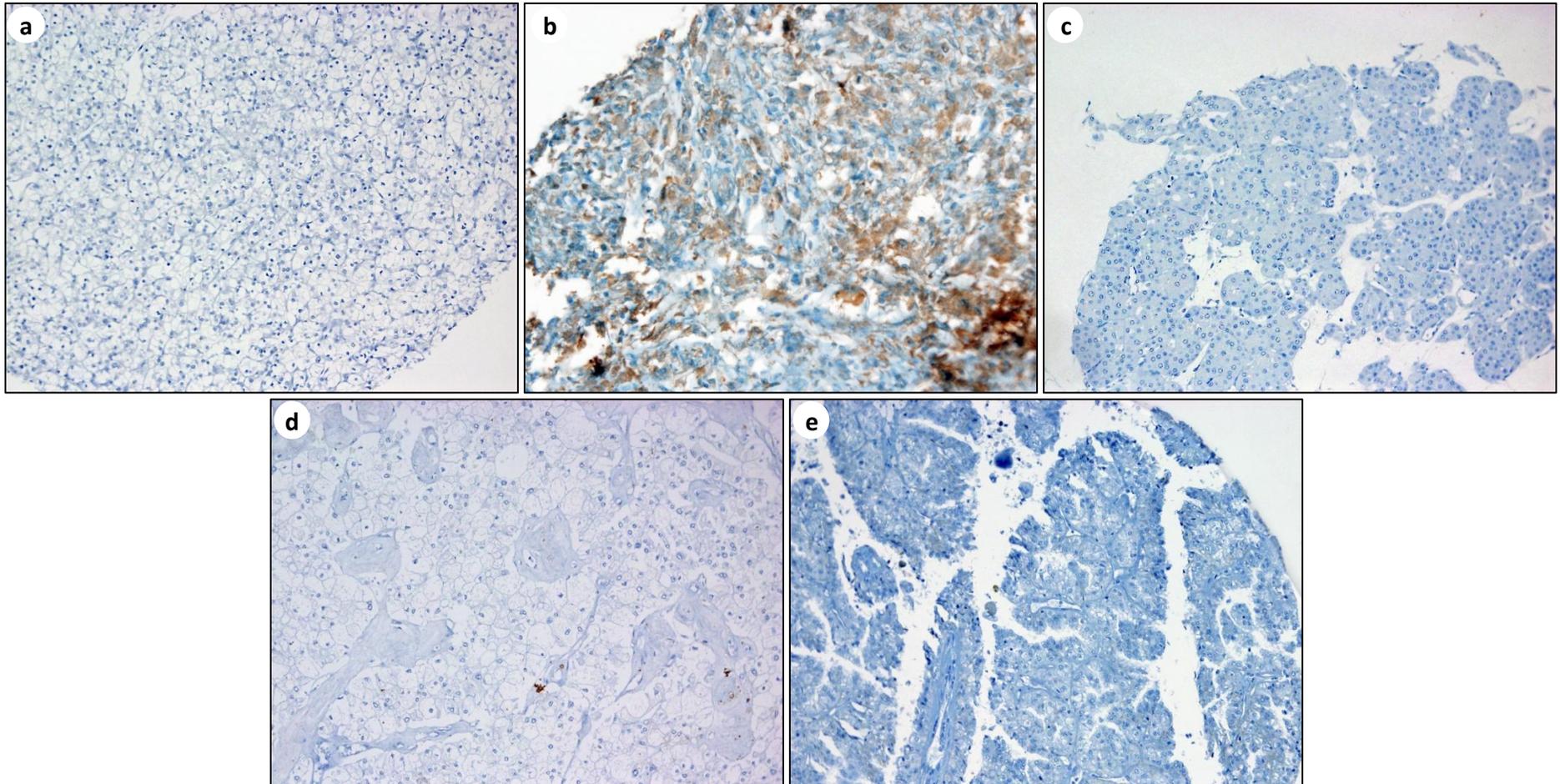


Figura 33b. Inmunotinción para COL11A1, a) Convencional, b)Sarcomatoide, c) Oncocitoma, d) Cromofobo y e) papilar

La expresión de COL11A1 en el tumor, se asoció con un acusado descenso ($p < 0,001$) en la supervivencia por causa renal (figura 34).

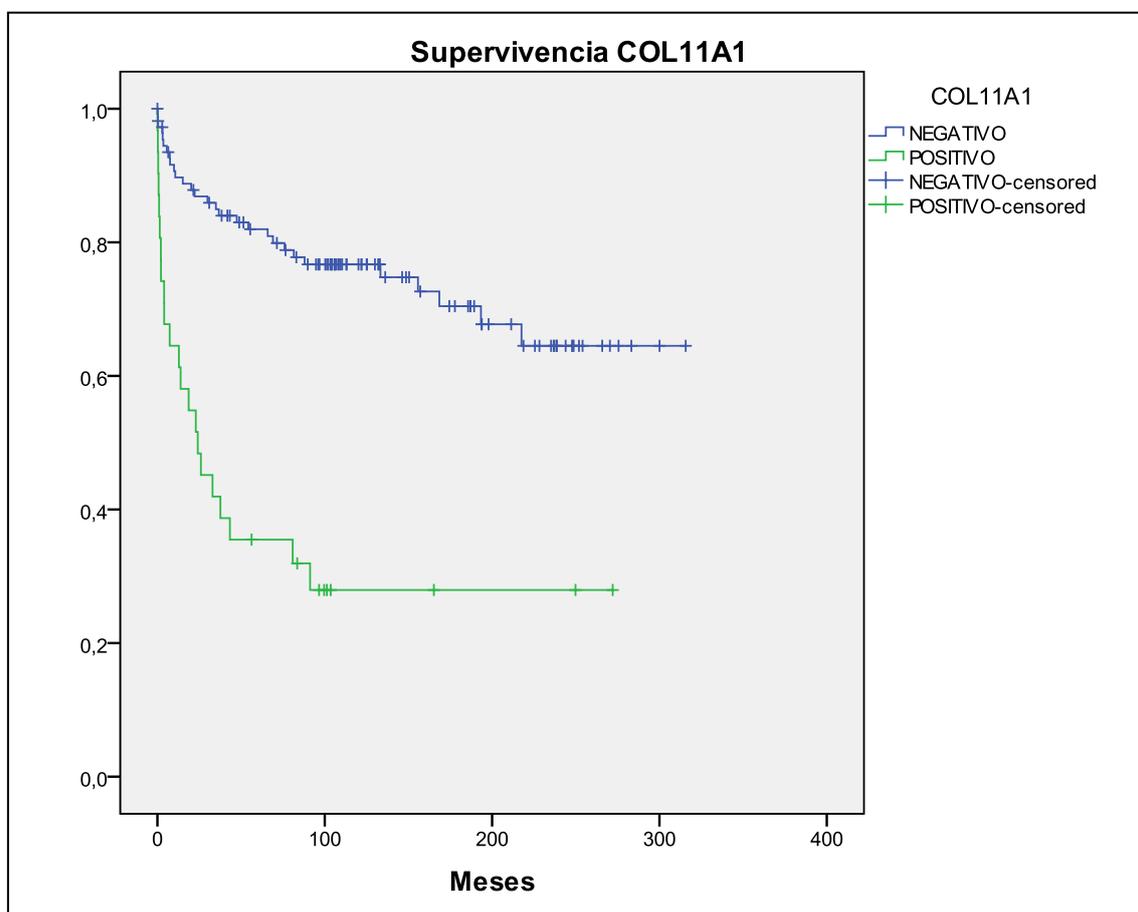


Figura 34. Gráfica de supervivencia del COL11A1

PLAUR. Urokinase plasminogen activator receptor.

PLAUR, es una parte del sistema de activación del plasminógeno, que regula en cierta medida la reorganización tisular. El análisis inmunohistoquímico, reveló una alta expresión de esta proteína en todos los tipos histológicos, siendo el oncocitoma en el subtipo que menos la expresaba con un 61,54% de casos positivos (tabla 21, figura 35 a y b).

Tabla 21. Número de casos del marcador clasificados por la expresión PLAUR.

| | PLAUR POSITIVO | PLAUR NEGATIVO | NO VÁLIDO |
|--------------|----------------|----------------|-----------|
| CONVENCIONAL | 74 | 9 | 12 |
| SARCOMATOIDE | 11 | 1 | 5 |
| ONCOCITOMA | 8 | 5 | 2 |
| CROMÓFOBO | 5 | 2 | 0 |
| PAPILAR | 20 | 1 | 1 |

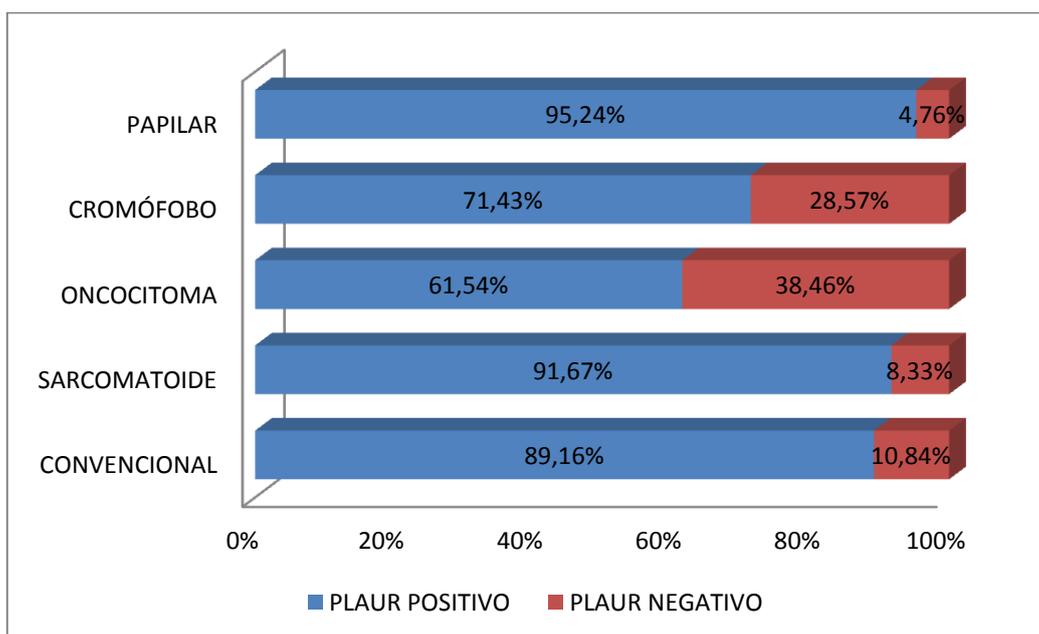


Figura 35a. Porcentaje de expresión por inmunohistoquímica anti PLAUR para todos los subtipos histológicos de tumor renal estudiados.

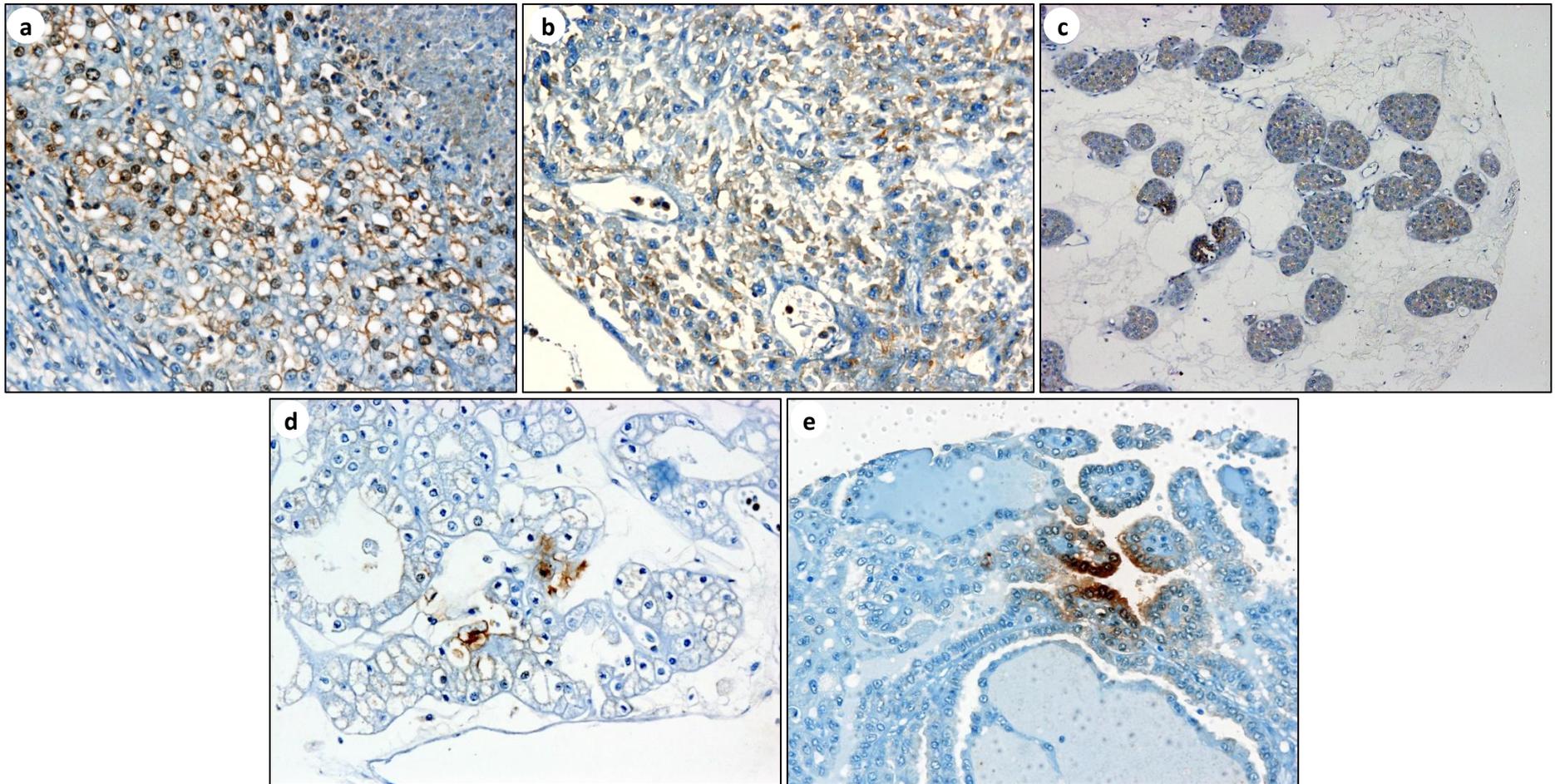


Figura 35b. Inmunotinción para PLAUR, a) Convencional, b)Sarcomatoide, c) Oncocitoma, d) Cromofobo y e) papilar

En la comparación de expresión diferencial, el análisis estadístico de los datos, reveló una significativa menor expresión de PLAUR en el oncocitoma, comparado con el carcinoma convencional ($p=0,0208$) y con la variante papilar ($p=0,0214$).

El análisis de la supervivencia categorizado por la expresión de PLAUR, refleja que existe un descenso significativo ($p=0,025$) de la supervivencia (figura 36).

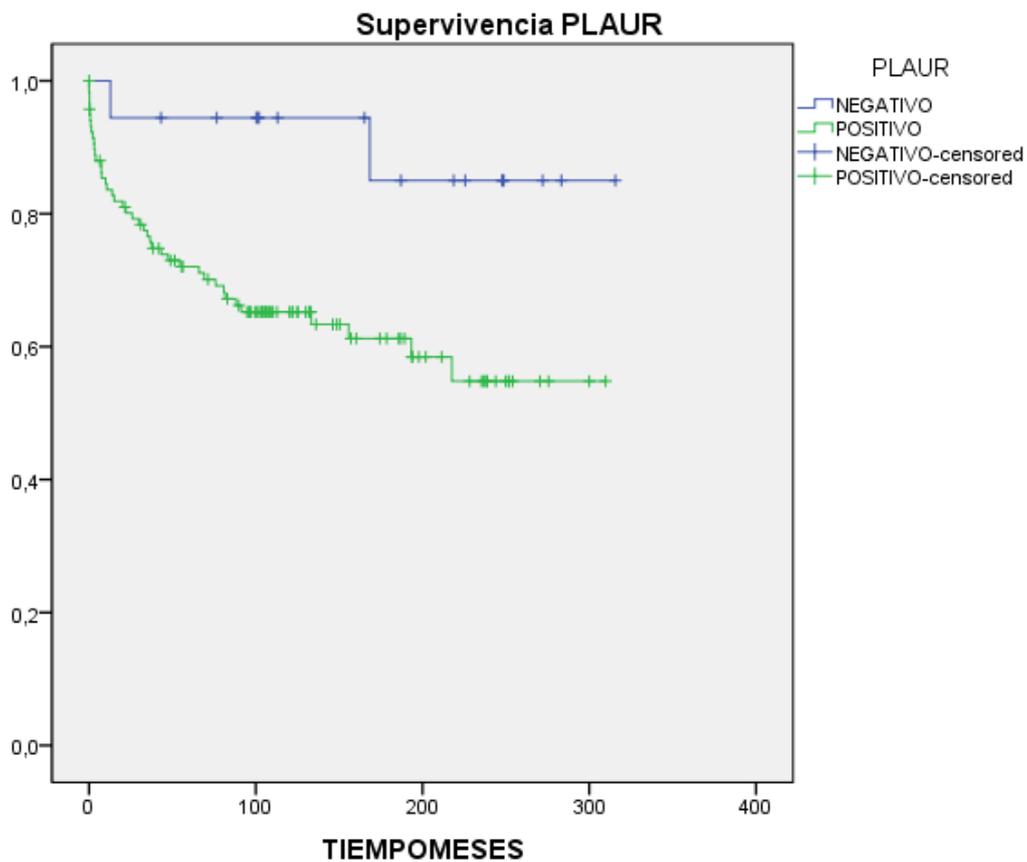


Figura 36. Gráfica de supervivencia de PLAUR.

DISCUSIÓN

El cáncer renal sigue siendo una enfermedad con numerosas incógnitas por resolver. La mejora en la precisión y anticipación del diagnóstico, así como las nuevas modalidades terapéuticas, han supuesto un cambio considerable en la actitud de los profesionales ante los tumores renales.

El aumento de tumores diagnosticados en estadios iniciales de la enfermedad, gracias a los nuevos métodos de imagen y la posibilidad de realizar un tratamiento curativo con éxito, son grandes avances en este tipo de neoplasia. Sin embargo, en el otro lado de la balanza, los carcinomas renales continúan teniendo una mortalidad específica global alrededor del 40% y aumenta considerablemente en estadios altos de la enfermedad. Se han realizado numerosos esfuerzos, que comienzan a dar sus frutos en el tratamiento conservador de los tumores renales órgano-confinados, y sirva como ejemplo, la cada vez mayor generalización de la cirugía laparoscópica o las diferentes modalidades de ablación tisular. Sin embargo, en tumores diagnosticados en estadio avanzado, la repercusión de las investigaciones, apenas ha influido sobre la supervivencia de los enfermos desde la década de los ochenta del pasado siglo. A este panorama, podríamos añadir el conjunto de tumores que, siendo inicialmente órgano-confinados, presentan progresión de la enfermedad y muestran una evolución inesperadamente agresiva, a pesar de un adecuado tratamiento inicial y de un correcto seguimiento.

El desarrollo de nuevos marcadores moleculares y la clasificación genómica del carcinoma renal, han sido objeto de numerosos trabajos de investigación desde la década de los noventa. Esto ha permitido realizar subgrupos histológicos más consolidados, con una repercusión real sobre el pronóstico de los enfermos y mejorar el conocimiento del comportamiento biológico tumoral. Sin embargo, muchos de estos marcadores no han sido validados, ya que su independencia como factores pronóstico, no ha sido demostrada estadísticamente en un número suficiente de estudios.

En la actualidad, a pesar de los esfuerzos en investigación, los factores pronósticos de uso clínico, continúan siendo el estadio tumoral, el grado histológico, el estado de salud y el subtipo histológico. No cabe duda que la mayor selección de los pacientes, para decidir su inclusión en nuevos protocolos de tratamiento, tanto quirúrgico conservador como médico de segunda línea, pasará por la definición de nuevos factores pronósticos, basados en el mejor conocimiento de la biología tumoral del carcinoma renal. Este hecho, ha sido la principal motivación de este trabajo de investigación.

A pesar de los avances de los últimos años relacionados con el cáncer renal, aún no disponemos de marcadores, con la suficiente sensibilidad y especificidad que nos permitan predecir la evolución después de la cirugía. Siguen siendo los factores clásicos histopatológicos, los únicos que nos proporcionan un perfil pronóstico en estos tumores. Por este motivo, se buscan marcadores que configuren un perfil tumoral, cuyo valor pronóstico sea útil para predecir supervivencia, probabilidad de recidiva y/o metástasis y respuesta a tratamientos adyuvantes. Sin embargo, y a pesar del aumento de la detección de tumores debido al uso de técnicas de imagen, en estadios precoces y de manera incidental, la mortalidad no ha descendido de forma proporcional en el cáncer renal.

DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN

La distribución de sexo en nuestra serie muestra un predominio de los varones respecto a las mujeres, con una relación varón / mujer de 2,1 varones por cada mujer. Se ha considerado clásicamente que la distribución por sexos en el cáncer renal, corresponde con una incidencia del más del doble de varones que mujeres. Sin embargo, parece que estas diferencias podrían estar acortándose en la actualidad. Algaba²⁰² cita una razón de sexo varón-mujer de 1,6:1 mientras que Medina López²⁰³ informa de una razón de sexo de 1,3:1, que confirma esta observación en nuestro país.

Cada año, la Sociedad Americana del Cáncer, estima el número de nuevos casos de cáncer y muertes que ocurrirán en Estados Unidos en el año en curso y recopila los datos más recientes sobre la incidencia del cáncer¹. Según este estudio, el número estimado de nuevos casos de cáncer renal esperado en Estados Unidos en 2015, es de 61.569, de los cuales equivalen al sexo masculino 38.270 y al sexo femenino 23.290. Expone también, los tipos de cáncer más comunes esperados a ocurrir en hombres y mujeres en 2015, siendo el cáncer renal, el séptimo más comúnmente de los cánceres diagnosticados, (5% del total) en varones, y el décimo en mujeres (constituyendo el 3% del total).

En la actualidad, el sexo no se considera un factor de riesgo en el desarrollo del cáncer renal. Tan solo, en el trabajo de Onishi y cols²⁰⁴, se encuentra una relación pronóstica en relación al sexo. Estos autores, mediante un análisis multivariante, donde no se incluyen otros factores de riesgo, obtienen un pronóstico más favorable en mujeres afectadas de carcinoma renal. En nuestra serie no existen diferencias significativas respecto al sexo.

La mediana de la edad de nuestra serie, corresponde a 63 años y la media de edad corresponde a 62,13 años, siendo el grupo de edades con mayor representación entre 51 a 70 años. Estos datos se corresponden con los datos publicados en la práctica totalidad de las series revisadas²⁰⁵.

Según estudios recientes, la tasa de incidencia de cáncer renal atendiendo a edad y sexo, y comparándolo con el resto de tipos de cáncer, son para sexo masculino un 0,2% (1 caso de 468 varones) en el intervalo de edad de 0 a 49 años; 0,3% (1 caso de 292 varones) de 50 a 59 años; 0,6% (1 caso de 157 varones) de 60 a 69 años y 1,3% (1 caso por cada 76 varones) en

mayores de 70 años. Referente a mujeres, los porcentajes son 0,1% (1 caso por cada 752 mujeres) para el intervalo de edad de 0 a 49 años; 0,2% (1 caso por cada 586 mujeres) de 50 a 59 años; 0,3% (1 caso de 321) de 60 a 69 años y 0,7% (1 caso por cada 134 mujeres) en mayores de 70 años²⁰⁶.

Nuestro estudio, se compone de un total de 156 pacientes con una distribución de subtipos histológicos, muy similar a la incidencia de cada tipo tumoral en el conjunto de los tumores renales. Constando de 95 casos de carcinoma convencional, 17 casos de la variedad sarcomatoide, 15 casos de oncocitoma, 7 de carcinoma cromóforo y los 22 restantes de carcinoma papilar. Con lo que hemos pretendido tener representación, del espectro total de neoplasias que conforman la realidad de la neoplasia renal.

La representación en porcentajes, corresponde a un 72% de carcinoma de células renales de células claras (que engloba al carcinoma convencional, con un 61% del total de casos y la variante histológica, con cambios sarcomatoides, con una representación del 11% de todos los pacientes del estudio y de la que se discute su personalidad propia, o su inclusión dentro del grupo de carcinomas convencionales). Además, hemos revisado un 10% de casos de oncocitomas, un 4% de carcinomas cromóforos y un 14% de carcinomas papilares.

El carcinoma convencional, es el más frecuente de los carcinomas de células renales y comprende cerca del 70-80% de las neoplasias epiteliales renales²⁰⁷.

El carcinoma de células claras, en ocasiones presenta un cambio en el fenotipo adquiriendo las células un hábito sarcomatoide. Este fenómeno ocurre, en menos del 5% de los casos y como describía previamente, es objeto de discusión, ya que en la literatura existe discrepancia entre autores que propugnan incluir el Carcinoma sarcomatoide, como una entidad propia, o aquellos, que sugieren mantenerlo dentro del grupo de los Carcinoma convencionales de células claras, describiendo el cambio en el fenotipo, y asignando un grado 4 de Führman, como única característica reseñable⁵⁸. En el análisis de los datos generales de nuestra serie, encontramos diferencias claras en el comportamiento biológico y en ciertos marcadores, lo que apoyaría su distinción como grupo independiente entre las neoplasias renales.

El oncocitoma renal, es una neoplasia epitelial de comportamiento benigno y representa entre un 3-10% de los tumores renales. Otra variedad anatomopatológica que encontramos en nuestro estudio, es el carcinoma renal de células cromóforas, alcanzando cifras de un 4-6%²⁰⁸.

El carcinoma papilar presenta una frecuencia, que oscila entre un 10-15% de todos los casos de cáncer renal²⁰⁹.

En la actualidad, la presencia de un tumor multifocal o la presencia de tumores en ambos riñones de un mismo paciente, no se consideran factores pronóstico independientes negativos en el cáncer renal, de hecho, existen casos diagnosticados de tumores múltiples, en el caso del oncocitoma renal, en la así llamada oncocitomatosis, que no se siguen de un comportamiento agresivo metastásico. Sin embargo, determinar su presencia es fundamental a la hora de plantear una cirugía conservadora, tanto por exceso como por defecto terapéutico.

En la presente serie, el porcentaje de localización en el riñón derecho, es del 50,64% de los casos, en el riñón izquierdo, es el 47,44%, en el 1,92% restante la localización en el momento del registro, era desconocida. La incidencia del cáncer renal recogida en nuestros pacientes está dentro de los márgenes que se comunican en la literatura^{210,211}, donde el análisis estadístico, no encuentra ninguna relación significativa entre la localización tumoral, referente a la afectación de la lateralidad tumoral, y la progresión tumoral del cáncer renal.

No existen estudios previos claros que asocien la localización del tumor, referente a la lateralidad del tumor renal y el subtipo histológico. En nuestro estudio, hacemos referencia del predominio en el lado derecho en el carcinoma convencional, en el carcinoma papilar y en el oncocitoma. Y en el lado izquierdo, el carcinoma sarcomatoide y el carcinoma cromóforo. No existiendo muestras previas con las que podamos comparar.

En el cáncer renal, como en la mayoría de las neoplasias, el estadiaje, que representa la extensión anatómica de la enfermedad, es el principal factor pronóstico reseñado en la literatura.

Desde 1997, hasta la actualidad, el estadio se determina fundamentalmente por la clasificación TNM, quedando en desuso la clasificación de Robson. En 1997, se efectuó la puesta al día por parte de la

UICC (Union Internationale Contre le Cancer) y la AJCC (American Joint Committee on Cancer) de la 5^o clasificación TNM²¹². Actualmente está en vigor la séptima clasificación TNM de 2009⁷².

En el presente estudio, se ha analizado en cada subtipo histológico, el estadiaje tumoral en el momento del diagnóstico. La distribución de los pacientes, se presentó con un 32,05% en estadio I, el 25,64% en estadio II, un 35,90% en estadio III y en estadio IV, un 6,41%. En nuestra serie la mayoría de los pacientes se han encontrado en un estadio III y estadio I. Comparando con la distribución de la mayoría de las series publicadas, observamos que es un hecho común a todas, la tendencia a diagnosticarse en estadio I y III^{213,214}. Ese patrón común en la distribución, se podría explicar por dos hechos. En primer lugar, el aumento en el diagnóstico de lesiones incidentales, debido a la generalización en el uso de pruebas de imagen abdominal²¹⁵ y segundo por el cambio que supuso la clasificación TNM de 2009^{216,217}.

En nuestra serie, al analizar independientemente los 5 subtipos histológicos, también existe predominio del estadio I y III en el carcinoma convencional, carcinoma cromóforo y papilar. Así tenemos una distribución de un 37,87% de casos en el estadio III y un 32,63%, en el estadio I para el carcinoma convencional. Lo mismo sucede en el carcinoma cromóforo y en la variedad papilar, con un 28,57% de los casos en estadios III y un 57,14% para el estadio I en el carcinoma cromóforo, algo que traduce el comportamiento menos agresivo de este tipo tumoral, y en el carcinoma papilar tenemos en el estadio I, el 40,91% de los casos y el 31,82% en el estadio III.

En la variedad sarcomatoide, en nuestro estudio hay un predominio de casos en estadios avanzados, con unos porcentajes que se sitúan en un 47,06% de los casos en estadio III y un 35,29% de los casos en estadio IV. Todo ello coincide, con los porcentajes en las series más numerosas de la literatura, y a que estos tumores se encuentran a menudo en pacientes en un estado localmente avanzado o metastásico^{218,219}.

Y por último, en nuestra muestra referente al oncocitoma, existen un predominio de casos en estadio I y II, con unos porcentajes de casos del 33,33% y 46,67% respectivamente. Como la literatura refleja, este tipo de tumor suele ser sintomático, de ahí su diagnóstico en etapas iniciales y por otro

lado, su comportamiento benigno con ausencia de infiltración, hace que permanezca en dichos estadios iniciales durante más tiempo²²⁰.

ANÁLISIS DE LA SUPERVIVENCIA

Las características histopatológicas, han demostrado tener relevancia en la evolución del cáncer renal, y fundamentalmente con la progresión y supervivencia de la misma.

En nuestro estudio, analizamos la supervivencia global de cada variedad histológica de cáncer renal a lo largo de 108 meses, con unos porcentaje de supervivencia general, independientemente de las posibles causas de muerte, del 100% para el carcinoma cromóforo, el 80% en el oncocitoma, 54,7% en el carcinoma convencional, un 36,6% en la variedad papilar y un 5,9% en la variedad sarcomatoide. Resultando un 94,1% de muertes en la variedad sarcomatoide

El carcinoma cromóforo clásicamente ha sido considerado de mejor pronóstico que el carcinoma convencional, al igual que los tumores papilares^{221,222}.

Sin embargo, existen trabajos actuales que encuentran similar supervivencia en los diferentes tipos histológicos, con la salvedad de los que poseen diferenciación sarcomatoide, en los que existe consenso en relación a su peor evolución^{223,224}.

En este sentido, el trabajo publicado por Dall'Oglio et al, sitúa la supervivencia libre de enfermedad a los cinco años en el 76,6% para los tumores de células claras, 71,2% para los cromóforos y 72,7% para los papilares, descendiendo hasta el 26,9% para los que poseen diferenciación sarcomatoide^{203,223,225,226}.

El estudio de la supervivencia cáncer específica en cada tipo histológico, supone un criterio pronóstico. Es un factor importante a la hora de valorar los pacientes libre de enfermedad, tras los 9 años de seguimiento y valoración de porcentajes de fallecidos de causa cáncer renal en nuestro estudio.

Los resultados según el tipo histológico, sitúan al oncocitoma y la variedad cromófora con un 100% de supervivencia, seguidos con un 71,57%

de carcinoma convencional, 59,09% de la variedad papilar y sólo un 17,65% de los sarcomatoides.

Destaca el porcentaje de la variedad sarcomatoide del 82,35% de muertes por causa renal.

En el análisis de la supervivencia de causa renal, el carcinoma convencional sigue siendo el de peor pronóstico³⁸, si no tenemos en cuenta aquellos que sufrieron diferenciación sarcomatoide, que por sí ya muestra empobrecimiento de la supervivencia^{207,213,227-229}.

En cuanto a la presencia de segundas neoplasias que pueden comportar un incremento en la mortalidad, en nuestra serie supone un 7,37% en el caso del carcinoma convencional de células claras. Parece por tanto incrementado el riesgo de desarrollo de otros tumores, que no aparece reflejado en el resto de tipos histológicos, probablemente debido al menor número de tumores presentes en la muestra.

Comparados con estudios previos de supervivencia en el cáncer renal, esta viene condicionada fundamentalmente por estadio tumoral (afectación ganglionar, presencia de metástasis), tipo histológico, afectación vascular, grado nuclear y factores moleculares²³⁰. En la literatura parece encontrarse acuerdo relativo a la supervivencia global y cáncer específica, pero no existe consenso, referente a estudios que engloben más de 5 años y que según el tipo histológico, describan el número de exitus asociado a otro tipo de patología neoplásica, no relacionada con el cáncer renal. En nuestra serie, la mortalidad asociada a causas no relacionadas con el propio tumor renal, proporciona datos no significativos en los que el oncocitoma es el que más se asocia a eventos extrarrenales como causa de muerte, algo que llama la atención en un rango de edades ligeramente menor que el resto de tipos histológicos^{210,231,232}.

En la Clínica Mayo han desarrollado un nomograma que predice la supervivencia, tras calcular un score del 1 al 10 (SSING) desde el primero hasta el décimo año. Pero este modelo solo integra el estadio, tamaño, grado y la existencia de necrosis²²¹.

Así existen otros estudios similares como el de Motzer et al²³³ o Cindolo²³⁴, pero lo cierto es que la Guía Europea del Carcinoma de células

renales no recomienda en la actualidad el uso rutinario de nomogramas o modelos predictivos²³⁵.

Otro apartado en el análisis de la supervivencia, ha sido el estudio de casos de muertes por otra causa distinta a la neoplásica. Los tumores cromóforos en nuestra serie de casos, siguen teniendo un porcentaje de pacientes libres de enfermedad del 100%, la variedad sarcomatoide presenta un 94,12% y el carcinoma convencional un 90,53% de casos libres de enfermedad. Es este estudio, el oncocitoma es el que más muertes tiene por esta causa, situándose un 20% de casos, seguidos de la variedad papilar con un 18,18% de los casos.

Actualmente con los factores pronóstico que tenemos a nuestro alcance, no es posible predecir con la suficiente exactitud el comportamiento biológico del cáncer renal, ya que existen casos de comportamiento inexplicable de recidivas tardías en neoplasias en estadios iniciales, y al contrario, tumores con periodos libres de enfermedad prolongados asociados a estadios avanzados iniciales²³⁶.

En conjunto, nuestros resultados proporcionan nuevos datos asociados a parámetros biológicos asociados a la transición epitelio-mesénquima en las distintas variedades histológicas de cáncer renal, y sugiere fuertemente la necesidad de más estudios de los mecanismos biológicos subyacentes, y su asociación con el comportamiento clínico²³⁷.

ITGA6

Las integrinas son moléculas heterodiméricas que se componen de una subunidad α y una subunidad β . Las integrinas parecen ser los principales receptores, por los cuales las células se unen a elementos de la matriz extracelular, y también determinan la adhesión célula a célula²³⁸.

Las integrinas constituyen mecanoreceptores especializados, capaces de traducir una señal mecánica y transmitirla desde la superficie celular, a través de una vía molecular específica para convertirla en cambios bioquímicos intracelulares, el estímulo de multitud de otros receptores o la inducción de la expresión génica. A ese nivel existen grandes complejos macromoleculares que constituyen puntos de adhesión, entre la matriz intersticial y la célula, que

se conocen como adhesiones focales, auténticas organelas mecanosensitivas. Las células solo crecen y se diferencian en un contexto tisular apropiado, y esta información se obtiene a través de la interacción específica, entre la célula y la matriz extracelular. Las integrinas promueven la supervivencia celular a través de las adhesiones focales, pero también están relacionadas con el proceso fisiológico de anoikis –la apoptosis en respuesta a una inadecuada relación célula/matriz extracelular– y por tanto, son fundamentales para el correcto recambio de los tejidos epiteliales²³⁹.

Las *integrinas* son las moléculas más importantes que anclan la célula a la matriz extracelular. Constituyen una gran familia transmembrana de proteínas, cuyos miembros son expresados según los tipos y necesidades fisiológicas de tejidos y células, con un dominio intracelular que contacta con el citoesqueleto, y otro extracelular globular que es capaz de unir colágeno, integrinas y lamininas, constituyendo enlaces capaces de modificar el comportamiento celular. La célula puede modificar su capacidad de adhesión, y por tanto su movilidad, cambiando el juego de proteínas receptoras en su superficie.

Existen tres importantes subfamilias de integrinas. Las proteínas de la subfamilia beta-1, se caracterizan por presentar la cadena beta-1 de tipo CD29. Su cadena alfa puede ser de varios tipos. En este grupo se incluyen las proteínas VLA (Very Late Activation) con 6 tipos diferentes de cadena alfa (CD49a-f), que generan las proteínas VLA1, VLA2, VLA3, VLA4, VLA5 y VLA6. Las proteínas VLA se expresan en la mayor parte de las células del organismo, excepto en los granulocitos. En basófilos y neutrófilos no existen este tipo de integrinas y solo en, eosinófilos, se expresa la integrina VLA4 (alfa-4/beta-1)²⁴⁰.

Es la matriz extracelular es la que hace de los tumores, tejidos funcionales conectados y dependientes del microambiente, y es la comunicación recíproca entre células del estroma y el parénquima tumoral, lo que dirige la expresión génica²⁴¹.

En nuestro estudio, el análisis del inmunomarcaje de la ITGA6 mostró un marcaje positivo en un 57,14% de los casos de la variedad papilar y un 42,86%, de los tumores cromóforos. Y un perfil negativo elevado en los oncocitomas, variedad sarcomatoide y carcinoma convencional (92,86%, 83,33% y 85,71% respectivamente).

El análisis estadístico de la expresión de la ITGA6, (CD 49 f), entre los 5 tipos diferentes de cáncer renal, y su comparación, demuestra una diferencia altamente significativa ($p=0,0001$) entre el carcinoma convencional y la variedad papilar, una diferencia muy significativa ($p=0,0039$) entre el oncocitoma y la variedad papilar, y una diferencia significativa ($p=0,0328$) entre las variedades sarcomatoides y papilar.

Aunque no sea significativa la diferencia, cabe reseñar la diferencia de expresión entre los oncocitomas, (7%), y los carcinomas cromófobos, (43%), algo que puede aportar información valiosa a la hora de un diagnóstico diferencial, que en ocasiones resulta complicado entre los dos tipos de tumores. Resultaría interesante evaluar el comportamiento en las nuevas entidades, como el carcinoma papilar de células claras, de descripción reciente, del que desgraciadamente no hemos podido incluir casos en nuestra serie.

Los pocos estudios inmunohistoquímicos que existen en la bibliografía, referente a la asociación de las integrinas y el cáncer renal, demuestran que existe asociación de integrina alfa 6, en las células de los carcinomas renales, pero no en los oncocitomas, hallazgo que corroboramos con nuestros datos^{242,243}.

ITGA5

El producto de este gen pertenece a la familia de la cadena de la integrina alfa. Las integrinas son proteínas integrales de membrana heterodiméricas, compuestas de una cadena alfa y una cadena beta. Este gen codifica la integrina alfa 5. La cadena alfa 5 se somete a la escisión post-traducciona, en el dominio extracelular, para producir cadenas ligeras y pesadas unidas por puentes de disulfuro, que unen con beta 1, para formar un receptor de fibronectina. Además de la adhesión, las integrinas son conocidas por participar en la señalización en la superficie celular²⁴⁴.

Nuestros estudios de expresión para esta proteína, (CD49e), frente a los 5 tipos de tumores renales, describen una positividad del 72,73% para la variedad sarcomatoide, y del 66,67% para el carcinoma cromóforo, resaltando la negatividad en el 100% de los oncocitomas.

El análisis de la supervivencia asociado a este marcador, muestra una asociación muy significativa entre la expresión de dicho marcador y una menor supervivencia. En la bibliografía revisada sobre este tema, no existen referencias respecto a cáncer renal, pero si, la asociación de expresión de dicho tumor con el desarrollo de cáncer de páncreas, mama y de pulmón²⁴⁵⁻²⁴⁷.

El análisis estadístico de la comparación de los distintos tipos histológicos de cáncer renal, demostró una diferencia altamente significativa ($p=0,0007$) entre el carcinoma convencional y el sarcomatoide; entre la variedad sarcomatoide y el oncocitoma ($p=0,0002$) y entre el oncocitoma y el carcinoma cromóforo ($p=0,0009$). También resultó una diferencia significativa ($p=0,0224$) entre el carcinoma convencional y el carcinoma cromóforo, y entre el oncocitoma y el carcinoma papilar ($p=0,0195$).

Según los artículos revisados, solo existe constancia de la asociación de la ITGA5 con el carcinoma cromóforo y el carcinoma de células renales.

Este hallazgo refuerza el ya descrito en nuestra serie respecto a la ITGA6, en cuanto a la expresión diferencial de integrinas en el oncocitoma y el carcinoma cromóforo. Es un problema habitual de diagnóstico diferencial, en el caso de biopsias pequeñas dirigidas a un diagnóstico previo a la cirugía, y el hecho de encontrar dos marcadores, que permiten su diferenciación y puede resultar de gran ayuda en la rutina clínica.

Por otro lado, nos ayudan también a interpretar el comportamiento clínico de los dos tipos tumorales, ya que aunque de baja agresividad, el carcinoma cromóforo es un tumor claramente de comportamiento maligno, algo que podría relacionarse con la capacidad de perder la adhesión celular y expresar marcadores de transición epitelio-mesénquima, lo que le daría opciones de supervivencia en un entorno hostil. El oncocitoma sin embargo, al carecer de dicha expresión quedaría como un tumor órgano-confinado sin capacidad metastásica. Lógicamente, este aspecto debe ser confirmado y estudiado de manera más profunda, en trabajos subsecuentes^{243,248}.

DSG2

Las desmogleínas son los principales miembros entre las cadherinas desmosómicas, implicados críticamente, en la adhesión célula-célula y el

mantenimiento de la arquitectura normal, del tejido en el epitelio. Los informes que exploran los vínculos de expresión de DSG, con cánceres, son pocos y de resultados variables.

En nuestra serie, el estudio inmunohistoquímico de los 5 tipos de tumores renales contra esta proteína, reveló la expresión de DSG2 en el 81,82% del oncocitoma, frente a un 39,51% de los carcinomas convencionales.

De la comparación de los 5 tipos histológicos resulta una diferencia muy significativa, ($p=0,0033$), entre el carcinoma convencional y la variedad papilar y una diferencia significativa, ($p=0,0103$), entre el carcinoma convencional y el oncocitoma.

En comparación con estudios previos, no se han encontrado asociaciones específicas con cáncer renal, pero si existen estudios generalizados de DSG2 y el cáncer, en unos casos, se demuestra que la DSG2 sirve de sustrato fisiológicos relevante en el contacto célula-célula, siendo el primer gran evento en la invasión, jugando un papel importante en el cáncer^{249,250}.

COL11A1

Gran cantidad de estudios han informado de que el gen humano COL11A1, que codifica para la cadena $\alpha 1$ de procolágeno y colágeno maduro de tipo XI, que es un colágeno fibrilar menor, está disregulado en algunos tumores humanos y en líneas celulares derivados de tumores mesenquimales, así como en las células madre mesenquimales y osteoblastos^{251,252}. Los polipéptidos del colágeno son sintetizados como procolágeno, con los extremos N- y C-propéptidos en los extremos de colágeno de triple hélice. Tras la secreción, los propéptidos son eliminados y posteriormente las moléculas de colágeno maduro se reúnen en fibrillas en la matriz extracelular.

En los tumores, la expresión del gen COL11A1 está asociado actualmente a un fenotipo similar a fibroblastos del estroma, pero el origen y la naturaleza de las células que producen procolágeno y colágeno 11A1, siguen siendo controvertidos en cierta medida^{195,253,254}. En nuestro estudio, destaca la positividad del Colágeno 11A1 en el 73,33% de los tumores sarcomatoides en las propias células tumorales y la negatividad, en el 100% de los carcinomas

cromóforos. La asociación negativa entre la expresión de colágeno y la supervivencia, puede atribuirse más que a dicha expresión, a que la mayoría de los tumores que presentan inmunopositividad fueron de diferenciación sarcomatoide. Este tipo histológico, como se ha discutido extensamente en la bibliografía, presenta *per se* una menor supervivencia comparada con el resto de subtipos histológicos de carcinoma renal. En este caso puede ser atribuible a la alta incidencia de tumores sarcomatoides y su elevada agresividad. No podemos realizar comparaciones bibliográficas ya que existen muy pocos estudios referentes a este tema²⁵⁵⁻²⁵⁷.

La expresión de este marcador en la comparación de los distintos subtipos histológicos estudiados, expresa una diferencia altamente significativa ($p=0,0001$), entre el carcinoma convencional y variedad sarcomatoide, y entre el sarcomatoide con el oncocitoma, ($p=0,0006$). Mientras que la asociación, entre la variedad sarcomatoide y el carcinoma cromóforo y el carcinoma papilar, es una diferencia muy significativa ($p=0,0014$ y $p=0,0017$; respectivamente)

Nuestro trabajo demuestra la asociación del colágeno 11 con el cáncer renal, y más específicamente con la variedad sarcomatoide. No existen estudios previos de esta asociación con distintos tipos de cáncer renal. A diferencia de lo descrito previamente, en otros tipos tumorales en los que se ha demostrado, como el procolágeno 11A1, es un producto de expresión de la proteína del gen COL11A1, en miofibroblastos del estroma de adenocarcinoma de colon y en carcinomas infiltrantes de mama, en el caso del Carcinoma sarcomatoide renal, la expresión del procolágeno se da en las propias células tumorales, algo que no está descrito hasta el momento.

Este hallazgo plantea dudas acerca del carácter de las células tumorales y demuestra una vez más, cómo puede entenderse el fenómeno de la transición epitelio-estroma. Es decir, cómo células de origen claramente epitelial como las del carcinoma renal, pueden sufrir una transformación fenotípica, que les hace producir proteína colágena, algo propio únicamente de células mesenquimales de hábito fibroblástico. Esta “transdiferenciación” resulta compleja de demostrar pero queda patente en nuestro estudio²⁵⁸.

Muy recientemente, se ha descubierto que procolágeno 11A1 en células del estroma asociadas con el cáncer de adenocarcinoma ductal

pancreático, co-expresa α SMA y/o vimentina y/o desmina en diferentes proporciones²⁵⁹. El grupo del Dr. Halsted realizó en tejido estromal, inmunotinción vascular de ambos tejidos normales y malignos de mama humano, con antisuero policlonal a regiones específicas de los dominios N-terminales de procolágeno humano 11A1²⁶⁰. También existen estudios de asociación del COL11A1 a carcinomas invasivos, células epiteliales neoplásicas, supuestamente en transición epitelio-mesenquimal y células derivadas de carcinoma con capacidades altamente metastásico, puede expresar COL11A1. Por lo tanto, en las metástasis establecidas, la expresión de COL11A1/(pro) de colágeno 11A1 podría basarse tanto en las células epiteliales metastásicas y/o las células estromales activados, acompañan COL11A1 es un notable biomarcador de progresión de carcinoma^{200,257}.

PLAUR

El sistema activador de plasminógeno de tipo uroquinasa desempeña un papel central en la degradación de la matriz extracelular, migración celular y la invasión. Pertenece a la familia de las proteasas de serina. Se ha demostrado que su actividad proteolítica está involucrado en el proceso metastásico, por la activación y la unión a su receptor (PLAUR). Estudios previos en varios sistemas de órganos, han dilucidado una mayor expresión de este sistema en tejido maligno en comparación con tejido normal²⁶¹.

En nuestro estudio, el análisis de expresión de esta proteína en cada variedad histológica de cáncer renal expresó una alta positividad para todos los subtipos, destacándose el carcinoma papilar con un 95,24% de los casos, la variedad sarcomatoide con un 91,67% y el carcinoma convencional con el 89,16%. La disminución de la supervivencia asociada a la expresión de PLAUR, ha sido sugerida en tumores como el colorectal²⁶² y en el linfoma²⁶³. Nuestros resultados avalan este hecho aportando nuevos datos para determinar la importancia de este marcador^{264,265}.

La comparación de los distintos subtipos nos desvela una diferencia significativa, para la asociación carcinoma convencional y oncocitoma ($p=0,0208$) y entre el oncocitoma, con el carcinoma papilar ($p=0,0214$)

Revisando bibliografía que refleje la asociación entre PLAUR y los distintos tipos histológicos de cáncer renal, existen artículos en los que se refleja la elevada expresión de PLAUR-proteína en el carcinoma de células renales, en comparación con el tejido normal adyacente. Hay una tendencia estadística en la que, una mayor expresión de PLAUR, se correspondía con el estadio tumoral TNM y grado de carcinoma de células renales. Llegando a la conclusión de que PLAUR se sobreexpresa en el cáncer renal y podrían funcionar como marcador tumoral de malignidad, reforzando el comportamiento del oncocitoma, negativo para este marcador²⁶⁶.

Este marcador sólo ha tenido utilidad clínica como marcador de pronóstico, mediante pruebas de ELISA, para su detección en el tejido fresco o congelado²⁶⁷⁻²⁷⁰.

El análisis de los marcadores tumorales con los distintos tipos tumorales, mediante regresión logística, para determinar si existe algún tipo de asociación, nos hace declinarnos hacia el estudio individualizado de cada marcador porque nos parece más fiable.

CONCLUSIONES

1. Los carcinomas sarcomatoides presentaron datos de supervivencia significativamente menores que el resto de subtipos.
2. La expresión de la ITGA 6 se asoció principalmente al Carcinoma papilar y los Carcinomas cromófobos. Este marcador, podría resultar de ayuda en el diagnóstico diferencial de dichos subtipos histológicos.
3. La ITGA5 mostró un comportamiento distinto estadísticamente significativo entre subtipos, por lo que su expresión podría ayudar en el diagnóstico diferencial entre el Oncocitoma y el Carcinoma cromóforo.
4. La expresión de ITGA5 se asoció con una menor tasa de supervivencia global relacionada con el tumor, independientemente del tipo histológico.
5. La expresión de DSG2 no se asoció a ningún tipo histológico concreto, ni presentó un cambio en la supervivencia global relacionada con el tumor.
6. La expresión del COL11A1 se asoció de manera directa a la diferenciación sarcomatoide. Además, la inmunopositividad para este marcador se asoció significativamente con una peor supervivencia.
7. La expresión de PLAUR no resultó discriminativa entre subtipos histológicos, pero su expresión, se asoció significativamente a una menor supervivencia global relacionada con el tumor.

BIBLIOGRAFÍA

1. Siegel, R.L., Miller, K.D. & Jemal, A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* **65**, 5-29 (2015).
2. Levi, F., *et al.* The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe. *BJU Int* **101**, 949-958 (2008).
3. Lopez-Abente, G., *et al.* Kidney cancer mortality in Spain: geographic patterns and possible hypotheses. *BMC Cancer* **8**, 293 (2008).
4. Berrino, F., *et al.* Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99: results of the EURO CARE-4 study. *Lancet Oncol* **8**, 773-783 (2007).
5. Barco, V. Facultad Ciencias Químicas. Universidad Complutense (2002).
6. Vogelzang, N.J. & Stadler, W.M. Kidney cancer. *Lancet* **352**, 1691-1696 (1998).
7. McLaughlin, J.K., *et al.* A population--based case--control study of renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* **72**, 275-284 (1984).
8. McLaughlin, J.K., *et al.* International renal-cell cancer study. I. Tobacco use. *Int J Cancer* **60**, 194-198 (1995).
9. Godley, P.A. & Stinchcombe, T.E. Renal cell carcinoma. *Curr Opin Oncol* **11**, 213-217 (1999).

10. Mellemegaard, A., *et al.* International renal-cell cancer study. III. Role of weight, height, physical activity, and use of amphetamines. *Int J Cancer* **60**, 350-354 (1995).
11. Wolk, A., Lindblad, P. & Adami, H.O. Nutrition and renal cell cancer. *Cancer Causes Control* **7**, 5-18 (1996).
12. Shapiro, J.A., Williams, M.A. & Weiss, N.S. Body mass index and risk of renal cell carcinoma. *Epidemiology* **10**, 188-191 (1999).
13. Grossman, E., Messerli, F.H. & Goldbourt, U. Does diuretic therapy increase the risk of renal cell carcinoma? *Am J Cardiol* **83**, 1090-1093 (1999).
14. Kreiger, N., Marrett, L.D., Dodds, L., Hilditch, S. & Darlington, G.A. Risk factors for renal cell carcinoma: results of a population-based case-control study. *Cancer Causes Control* **4**, 101-110 (1993).
15. Lindblad, P., McLaughlin, J.K., Mellemegaard, A. & Adami, H.O. Risk of kidney cancer among patients using analgesics and diuretics: a population-based cohort study. *Int J Cancer* **55**, 5-9 (1993).
16. McCredie, M., *et al.* International renal-cell cancer study. II. Analgesics. *Int J Cancer* **60**, 345-349 (1995).
17. McLaughlin, J.K., *et al.* International renal-cell cancer study. VIII. Role of diuretics, other anti-hypertensive medications and hypertension. *Int J Cancer* **63**, 216-221 (1995).
18. Wolk, A., *et al.* International renal cell cancer study. VII. Role of diet. *Int J Cancer* **65**, 67-73 (1996).
19. Mellemegaard, A., McLaughlin, J.K., Overvad, K. & Olsen, J.H. Dietary risk factors for renal cell carcinoma in Denmark. *Eur J Cancer* **32A**, 673-682 (1996).
20. Tavani, A. & La Vecchia, C. Epidemiology of renal-cell carcinoma. *J Nephrol* **10**, 93-106 (1997).
21. Montella, M., *et al.* Coffee, decaffeinated coffee, tea intake, and risk of renal cell cancer. *Nutr Cancer* **61**, 76-80 (2009).
22. Yuan, J.M., Castelao, J.E., Gago-Dominguez, M., Ross, R.K. & Yu, M.C. Hypertension, obesity and their medications in relation to renal cell carcinoma. *Br J Cancer* **77**, 1508-1513 (1998).
23. Boffetta, P., Jourenkova, N. & Gustavsson, P. Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer Causes Control* **8**, 444-472 (1997).

24. Mandel, J.S., *et al.* International renal-cell cancer study. IV. Occupation. *Int J Cancer* **61**, 601-605 (1995).
25. Mellempgaard, A., Engholm, G., McLaughlin, J.K. & Olsen, J.H. Occupational risk factors for renal-cell carcinoma in Denmark. *Scand J Work Environ Health* **20**, 160-165 (1994).
26. Eble, J.N., Sauter, G., Epstein, J.I. & Sesterhenn, I.A. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. in *WHO Classification of tumours* (ed. IARC) (IARC Press, Lyon, 2004).
27. Hanash, K.A., *et al.* Clinical research priorities in renal cell carcinoma: renal cell carcinoma chemoprevention strategies including target populations, proposed agents, and clinical trial designs--Workgroup No. 6. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* **80**, 999-1001 (1997).
28. Ishikawa, I. & Kovacs, G. High incidence of papillary renal cell tumours in patients on chronic haemodialysis. *Histopathology* **22**, 135-139 (1993).
29. Washecka, R. & Hanna, M. Malignant renal tumors in tuberous sclerosis. *Urology* **37**, 340-343 (1991).
30. Kovacs, G., *et al.* The Heidelberg classification of renal cell tumours. *J Pathol* **183**, 131-133 (1997).
31. Mostofi, F.K. Histologic typing of kidney tumors. in *International Histology Classification of tumours*, Vol. 25 (Geneve 1981).
32. Storkel, S., *et al.* Classification of renal cell carcinoma: Workgroup No. 1. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* **80**, 987-989 (1997).
33. Thoenes, W., Storkel, S. & Rumpelt, H.J. Histopathology and classification of renal cell tumors (adenomas, oncocytomas and carcinomas). The basic cytological and histopathological elements and their use for diagnostics. *Pathol Res Pract* **181**, 125-143 (1986).
34. European Network of Cancer Registries. in *730 entity dictionary* (Vol. Eurocim version 4.0 (European incidence database V2.3, Lyon, 2001).
35. Ferlay, J., *et al.* Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* **18**, 581-592 (2007).
36. Lindblad, P. Epidemiology of renal cell carcinoma. *Scand J Surg* **93**, 88-96 (2004).

37. Reuter, V.E., Tickoo, S.K. . In: , editors. . *Adult renal tumors*, (Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia: , 2004).
38. Reuter, V.E. & Presti, J.C., Jr. Contemporary approach to the classification of renal epithelial tumors. *Semin Oncol* **27**, 124-137 (2000).
39. González, P., Picazo, M.L. & Nistal, M. Anatomía patológica de las neoplasias renales del adulto. in *Tratado de oncología* (ed. Saned, G.) 357-375 (Madrid, 2003).
40. Tickoo, S.K. & Gopalan, A. Pathologic features of renal cortical tumors. *Urol Clin North Am* **35**, 551-561; v (2008).
41. de Peralta-Venturina, M., *et al.* Sarcomatoid differentiation in renal cell carcinoma: a study of 101 cases. *Am J Surg Pathol* **25**, 275-284 (2001).
42. Tickoo, S.K., *et al.* Immunohistochemical expression of hypoxia inducible factor-1alpha and its downstream molecules in sarcomatoid renal cell carcinoma. *J Urol* **177**, 1258-1263 (2007).
43. Murphy, W.N., Beckwich, J.B. & Farrow, G.M. Tumors of the kidney , bladder and related urinary structures. in *Atlas of tumor Pathology* (ed. Rosai, J.) (Armed Forces Institute of pathology, Washington DC, 1994).
44. Liu, L., *et al.* Immunohistochemical analysis of chromophobe renal cell carcinoma, renal oncocytoma, and clear cell carcinoma: an optimal and practical panel for differential diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* **131**, 1290-1297 (2007).
45. Rosai, J. Controversies in surgical pathology. *Int J Surg Pathol* **12**, 299-300 (2004).
46. Yamashita, S., *et al.* Morphological subtyping of papillary renal cell carcinoma: clinicopathological characteristics and prognosis. *Int J Urol* **14**, 679-683 (2007).
47. Amin, M.B., *et al.* Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms: an experience of 405 cases. *Am J Surg Pathol* **26**, 281-291 (2002).
48. Cheville, J.C., Lohse, C.M., Zincke, H., Weaver, A.L. & Blute, M.L. Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* **27**, 612-624 (2003).
49. Delahunt, B. & Eble, J.N. Papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 tumors. *Mod Pathol* **10**, 537-544 (1997).

50. Delahunt, B., *et al.* Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases. *Hum Pathol* **32**, 590-595 (2001).
51. Thoenes, W., Storkel, S. & Rumpelt, H.J. Human chromophobe cell renal carcinoma. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol* **48**, 207-217 (1985).
52. Cindolo, L., *et al.* Chromophobe renal cell carcinoma: comprehensive analysis of 104 cases from multicenter European database. *Urology* **65**, 681-686 (2005).
53. Goelden, U., *et al.* RAR-beta(1) overexpression in chromophobe renal cell carcinoma: a novel target for therapeutic intervention? *Exp Oncol* **27**, 220-224 (2005).
54. Tickoo, S.K., Amin, M.B. & Zarbo, R.J. Colloidal iron staining in renal epithelial neoplasms, including chromophobe renal cell carcinoma: emphasis on technique and patterns of staining. *Am J Surg Pathol* **22**, 419-424 (1998).
55. Moreno, S.M., Benitez, I.A. & Martinez Gonzalez, M.A. Ultrastructural studies in a series of 18 cases of chromophobe renal cell carcinoma. *Ultrastruct Pathol* **29**, 377-387 (2005).
56. Wang, H.Y. & Mills, S.E. KIT and RCC are useful in distinguishing chromophobe renal cell carcinoma from the granular variant of clear cell renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* **29**, 640-646 (2005).
57. Chao, D.H., *et al.* Changing concepts in the management of renal oncocytoma. *Urology* **59**, 635-642 (2002).
58. Gutiérrez, J.L. & Gómez-Román, J. Tumores renales y de vías urinarias. in *nefrología clínica* (Panamericana, madrid, 2008).
59. Amin, M.B., Crotty, T.B., Tickoo, S.K. & Farrow, G.M. Renal oncocytoma: a reappraisal of morphologic features with clinicopathologic findings in 80 cases. *Am J Surg Pathol* **21**, 1-12 (1997).
60. Perez-Ordóñez, B., *et al.* Renal oncocytoma: a clinicopathologic study of 70 cases. *Am J Surg Pathol* **21**, 871-883 (1997).
61. Erlandson, R.A., Shek, T.W. & Reuter, V.E. Diagnostic significance of mitochondria in four types of renal epithelial neoplasms: an ultrastructural study of 60 tumors. *Ultrastruct Pathol* **21**, 409-417 (1997).
62. Tickoo, S.K., *et al.* Ultrastructural observations on mitochondria and microvesicles in renal oncocytoma, chromophobe renal cell carcinoma, and

- eosinophilic variant of conventional (clear cell) renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* **24**, 1247-1256 (2000).
63. Tickoo, S.K., *et al.* Renal oncocytosis: a morphologic study of fourteen cases. *Am J Surg Pathol* **23**, 1094-1101 (1999).
64. Thrasher, J.B. & Paulson, D.F. Prognostic factors in renal cancer. *Urol Clin North Am* **20**, 247-262 (1993).
65. Flocks, R.H. & Kadesky, M.C. Malignant neoplasms of the kidney; an analysis of 353 patients followed five years or more. *J Urol* **79**, 196-201 (1958).
66. Robson, C.J., Churchill, B.M. & Anderson, W. The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. 1969. *J Urol* **167**, 873-875; discussion 876-877 (2002).
67. Pantuck, A.J., Zisman, A. & Belldegrun, A.S. The changing natural history of renal cell carcinoma. *J Urol* **166**, 1611-1623 (2001).
68. Bassil, B., Dosoretz, D.E. & Prout, G.R., Jr. Validation of the tumor, nodes and metastasis classification of renal cell carcinoma. *J Urol* **134**, 450-454 (1985).
69. Hofmockel, G., *et al.* Significance of conventional and new prognostic factors for locally confined renal cell carcinoma. *Cancer* **76**, 296-306 (1995).
70. Sobin, L.H. & Compton, C.C. TNM seventh edition: what's new, what's changed: communication from the International Union Against Cancer and the American Joint Committee on Cancer. *Cancer* **116**, 5336-5339 (2010).
71. Gospodarowicz, M.K., *et al.* The process for continuous improvement of the TNM classification. *Cancer* **100**, 1-5 (2004).
72. Edge, S.B. & Compton, C.C. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol* **17**, 1471-1474 (2010).
73. Fuhrman, S.A., Lasky, L.C. & Limas, C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* **6**, 655-663 (1982).
74. Ochsner, M.G., Brannan, W., Pond, H.S., 3rd & Goodier, E.H. Renal cell carcinoma: review of 26 years of experience at the Ochsner Clinic. *J Urol* **110**, 643-646 (1973).
75. Waters, W.B. & Richie, J.P. Aggressive surgical approach to renal cell carcinoma: review of 130 cases. *J Urol* **122**, 306-309 (1979).
76. Dekernion, J.B. & Belldegrun, A. Tumores renales. in *Urología* (ed. campbell, S.) 1049-1089 (Panamericana SA, Buenos Aires, 1994).

77. Ruiz, J.L. & Jiménez, J.F. Adenocarcinoma de células renales. Tumores de parenquima renal. . in *Tratado de urología* (ed. Prous, J.R.) 1093-1128 (1993).
78. Sufrin, G., Chasan, S., Golio, A. & Murphy, G.P. Paraneoplastic and serologic syndromes of renal adenocarcinoma. *Semin Urol* **7**, 158-171 (1989).
79. Bretheau, D., Lechevallier, E., Eghazarian, C., Grisoni, V. & Coulange, C. Prognostic significance of incidental renal cell carcinoma. *Eur Urol* **27**, 319-323 (1995).
80. Skinner, D.G., Colvin, R.B., Vermillion, C.D., Pfister, R.C. & Leadbetter, W.F. Diagnosis and management of renal cell carcinoma. A clinical and pathologic study of 309 cases. *Cancer* **28**, 1165-1177 (1971).
81. Robson, C.J. The natural history of renal cell carcinoma. *Prog Clin Biol Res* **100**, 447-452 (1982).
82. Srigley, J.R., *et al.* Current prognostic factors--renal cell carcinoma: Workgroup No. 4. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* **80**, 994-996 (1997).
83. Tsukamoto, T., *et al.* Interleukin-6 in renal cell carcinoma. *J Urol* **148**, 1778-1781; discussion 1781-1772 (1992).
84. Hanash, K.A. The nonmetastatic hepatic dysfunction syndrome associated with renal cell carcinoma (hypernephroma): Stauffer's syndrome. *Prog Clin Biol Res* **100**, 301-316 (1982).
85. Muggia, F.M. Overview of cancer-related hypercalcemia: epidemiology and etiology. *Semin Oncol* **17**, 3-9 (1990).
86. Sufrin, G., Golio, A. & Murphy, G.P. Serologic markers, paraneoplasix syndroms and ectopic hormone production in renal cáncer. in *Inmunodiagnosis of cancer* (ed. &Wilkins, W.) 51-62 (Baltimore, 1996).
87. Merimsky, O., Reider-Groswasser, I., Inbar, M. & Chaitchik, S. Interferon-related mental deterioration and behavioral changes in patients with renal cell carcinoma. *Eur J Cancer* **26**, 596-600 (1990).
88. Newman, N.J., Bell, I.R. & McKee, A.C. Paraneoplastic limbic encephalitis: neuropsychiatric presentation. *Biol Psychiatry* **27**, 529-542 (1990).
89. Evans, B.K., Fagan, C., Arnold, T., Dropcho, E.J. & Oh, S.J. Paraneoplastic motor neuron disease and renal cell carcinoma: improvement after nephrectomy. *Neurology* **40**, 960-962 (1990).

90. Oliver, C., Carballido, J. & Alvarez-Mon, M. Síndromes paraneoplásicos en oncología urológica. in *Tratado de urología* (ed. Prous, J.R.) 1077-1091 (Barcelona, 1993).
91. Sufrin, G. Biological and therapeutic challenges of renal carcinoma. *J Urol* **153**, 917-918 (1995).
92. Yagoda, A., Petrylak, D. & Thompson, S. Cytotoxic chemotherapy for advanced renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am* **20**, 303-321 (1993).
93. McNichols, D.W., Segura, J.W. & DeWeerd, J.H. Renal cell carcinoma: long-term survival and late recurrence. *J Urol* **126**, 17-23 (1981).
94. Golimbu, M., *et al.* Renal cell carcinoma: survival and prognostic factors. *Urology* **27**, 291-301 (1986).
95. Navarro, F., *et al.* Metastatic renal cell carcinoma to the head and neck area. *Tumori* **86**, 88-90 (2000).
96. Kakehi, Y., *et al.* Measurement of multidrug-resistance messenger RNA in urogenital cancers; elevated expression in renal cell carcinoma is associated with intrinsic drug resistance. *J Urol* **139**, 862-865 (1988).
97. Levine, E., Huntrakoon, M. & Wetzel, L.H. Small renal neoplasms: clinical, pathologic, and imaging features. *AJR Am J Roentgenol* **153**, 69-73 (1989).
98. Smith, S.J., *et al.* Renal cell carcinoma: earlier discovery and increased detection. *Radiology* **170**, 699-703 (1989).
99. De la Peña, E., Moreno, J. & Bocardo, G. carcinoma de los conductos colectores. in *xperiencia personal y revisión de la literatura.*, Vol. 55 275-288 (E Arch Esp urol 2002).
100. Charboneau, J.W., *et al.* Spectrum of sonographic findings in 125 renal masses other than benign simple cyst. *AJR Am J Roentgenol* **140**, 87-94 (1983).
101. Warshauer, D.M., *et al.* Detection of renal masses: sensitivities and specificities of excretory urography/linear tomography, US, and CT. *Radiology* **169**, 363-365 (1988).
102. Lechevallier, E., *et al.* Fine-needle percutaneous biopsy of renal masses with helical CT guidance. *Radiology* **216**, 506-510 (2000).
103. Stuart Wolf, J. Evaluación y tratamiento de las masas renales sólidas y quísticas. in *Actas urológicas españolas*, Vol. 6 370-384 (española, 1998).

104. Aslam Sohaib, S.A., *et al.* Assessment of tumor invasion of the vena caval wall in renal cell carcinoma cases by magnetic resonance imaging. *J Urol* **167**, 1271-1275 (2002).
105. Kallman, D.A., *et al.* Renal vein and inferior vena cava tumor thrombus in renal cell carcinoma: CT, US, MRI and venacavography. *J Comput Assist Tomogr* **16**, 240-247 (1992).
106. Laissy, J.P., *et al.* Renal carcinoma: diagnosis of venous invasion with Gd-enhanced MR venography. *Eur Radiol* **10**, 1138-1143 (2000).
107. Rodríguez, E., Soler, R., Requejo, I., González, S. . Carcinoma renal características y valoración de extensión mediante resonancia magnética. in *Radiología*, Vol. 42 93-98 (2000).
108. Requena, M.L.B., A., Anglada, F.J. Neoplasias renales: diagnóstico y tratamiento. *Arch Esp Urologia* **5**, 171-178 (2001).
109. Mainolfi, C., *et al.* Positron-emission tomography with fluorine-18-deoxyglucose in the staging and control of patients with lymphoma. Comparison with clinico-radiologic assessment. *Radiol Med* **95**, 98-104 (1998).
110. Bachor, R., *et al.* Positron emission tomography in diagnosis of renal cell carcinoma. *Urologe A* **35**, 146-150 (1996).
111. Hanahan, D. & Weinberg, R.A. The hallmarks of cancer. *Cell* **100**, 57-70 (2000).
112. Hanahan, D. & Weinberg, R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **144**, 646-674 (2011).
113. Cheng, N., Chytil, A., Shyr, Y., Joly, A. & Moses, H.L. Transforming growth factor-beta signaling-deficient fibroblasts enhance hepatocyte growth factor signaling in mammary carcinoma cells to promote scattering and invasion. *Mol Cancer Res* **6**, 1521-1533 (2008).
114. Lemmon, M.A. & Schlessinger, J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* **141**, 1117-1134 (2010).
115. Collado, M. & Serrano, M. Senescence in tumours: evidence from mice and humans. *Nat Rev Cancer* **10**, 51-57 (2010).
116. Evan, G.I. & d'Adda di Fagagna, F. Cellular senescence: hot or what? *Curr Opin Genet Dev* **19**, 25-31 (2009).
117. Burkhardt, D.L. & Sage, J. Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nat Rev Cancer* **8**, 671-682 (2008).

118. Sherr, C.J. & McCormick, F. The RB and p53 pathways in cancer. *Cancer Cell* **2**, 103-112 (2002).
119. Adams, J.M. & Cory, S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene* **26**, 1324-1337 (2007).
120. Blasco, M.A. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat Rev Genet* **6**, 611-622 (2005).
121. Cong, Y. & Shay, J.W. Actions of human telomerase beyond telomeres. *Cell Res* **18**, 725-732 (2008).
122. Evan, G. & Littlewood, T. A matter of life and cell death. *Science* **281**, 1317-1322 (1998).
123. Levine, B. & Kroemer, G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell* **132**, 27-42 (2008).
124. Lowe, S.W., Cepero, E. & Evan, G. Intrinsic tumour suppression. *Nature* **432**, 307-315 (2004).
125. Willis, S.N. & Adams, J.M. Life in the balance: how BH3-only proteins induce apoptosis. *Curr Opin Cell Biol* **17**, 617-625 (2005).
126. Baeriswyl, V. & Christofori, G. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Semin Cancer Biol* **19**, 329-337 (2009).
127. Bergers, G. & Hanahan, D. Modes of resistance to anti-angiogenic therapy. *Nat Rev Cancer* **8**, 592-603 (2008).
128. Cavallaro, U. & Christofori, G. Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *Nat Rev Cancer* **4**, 118-132 (2004).
129. Ferrara, N. Pathways mediating VEGF-independent tumor angiogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev* **21**, 21-26 (2010).
130. Klymkowsky, M.W. & Savagner, P. Epithelial-mesenchymal transition: a cancer researcher's conceptual friend and foe. *Am J Pathol* **174**, 1588-1593 (2009).
131. Boyer, B., Valles, A.M. & Edme, N. Induction and regulation of epithelial-mesenchymal transitions. *Biochem Pharmacol* **60**, 1091-1099 (2000).
132. Hay, E.D. An overview of epithelio-mesenchymal transformation. *Acta Anat (Basel)* **154**, 8-20 (1995).
133. Thiery, J.P. & Sleeman, J.P. Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol* **7**, 131-142 (2006).
134. LaGamba, D., Nawshad, A. & Hay, E.D. Microarray analysis of gene expression during epithelial-mesenchymal transformation. *Dev Dyn* **234**, 132-142 (2005).

135. Kalluri, R. & Weinberg, R.A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Invest* **119**, 1420-1428 (2009).
136. Yang, J. & Weinberg, R.A. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell* **14**, 818-829 (2008).
137. Cornejo, U.R. Drástica disminución de beta 1 integrina caracteriza la transformación celular del epitelio mamario. *Rev Chil Obstet Ginecol* **71**, 162-169 (2006).
138. Jaitovich, A. & Jaim Etcheverry, G. Adhesion molecules. Their role in cardiovascular physiopathology. *Medicina (B Aires)* **64**, 455-462 (2004).
139. D'Souza, S.E., Ginsberg, M.H., Burke, T.A., Lam, S.C. & Plow, E.F. Localization of an Arg-Gly-Asp recognition site within an integrin adhesion receptor. *Science* **242**, 91-93 (1988).
140. D'Souza, S.E., Ginsberg, M.H. & Plow, E.F. Arginyl-glycyl-aspartic acid (RGD): a cell adhesion motif. *Trends Biochem Sci* **16**, 246-250 (1991).
141. Humphries, M.J. Integrin structure. *Biochem Soc Trans* **28**, 311-339 (2000).
142. Hynes, R.O. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* **69**, 11-25 (1992).
143. Cox, D., Aoki, T., Seki, J., Motoyama, Y. & Yoshida, K. The pharmacology of the integrins. *Med Res Rev* **14**, 195-228 (1994).
144. Paniagua, R., Nistal, M., Sesma, P., Alvarez, M., Fraile, B., Anadón, R., . *Biología celular*, (Hill MG, Madrid, 2003).
145. Berg, J.M., Tymoczko, J.L. *Bioquímica*, (Reverte, Barcelona, 2009).
146. Lodish, H., Berk, A., Matsudaira, P., Kaiser, C.A., Krieger, M., Scott, M.P., Zipursky, S.L. *Biología celular y molecular*, (Médica Panamericana, Buenos Aires, 2006).
147. Rabinovitz, I., Nagle, R.B. & Cress, A.E. Integrin alpha 6 expression in human prostate carcinoma cells is associated with a migratory and invasive phenotype in vitro and in vivo. *Clin Exp Metastasis* **13**, 481-491 (1995).
148. Lathia, J.D., *et al.* Integrin alpha 6 regulates glioblastoma stem cells. *Cell Stem Cell* **6**, 421-432 (2010).
149. Dydensborg, A.B., *et al.* Integrin alpha6Bbeta4 inhibits colon cancer cell proliferation and c-Myc activity. *BMC Cancer* **9**, 223 (2009).

150. Argraves, W.S., *et al.* cDNA sequences from the alpha subunit of the fibronectin receptor predict a transmembrane domain and a short cytoplasmic peptide. *J Biol Chem* **261**, 12922-12924 (1986).
151. Francavilla, C., Maddaluno, L. & Cavallaro, U. The functional role of cell adhesion molecules in tumor angiogenesis. *Semin Cancer Biol* **19**, 298-309 (2009).
152. Brooks, S.A., Lomax-Browne, H.J., Carter, T.M., Kinch, C.E. & Hall, D.M. Molecular interactions in cancer cell metastasis. *Acta Histochem* **112**, 3-25 (2010).
153. Varner, J.A. & Cheresh, D.A. Integrins and cancer. *Curr Opin Cell Biol* **8**, 724-730 (1996).
154. Denadai, M.V., *et al.* Expression of integrin genes and proteins in progression and dissemination of colorectal adenocarcinoma. *BMC Clin Pathol* **13**, 16 (2013).
155. Ohyagi-Hara, C., *et al.* miR-92a inhibits peritoneal dissemination of ovarian cancer cells by inhibiting integrin alpha5 expression. *Am J Pathol* **182**, 1876-1889 (2013).
156. Viana Lde, S., *et al.* Relationship between the expression of the extracellular matrix genes SPARC, SPP1, FN1, ITGA5 and ITGAV and clinicopathological parameters of tumor progression and colorectal cancer dissemination. *Oncology* **84**, 81-91 (2013).
157. Walter, R.B., *et al.* Significance of expression of ITGA5 and its splice variants in acute myeloid leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Am J Hematol* **88**, 694-702 (2013).
158. Xie, X.Y., *et al.* The influence of fibronectin on the formation of multi-cellular spheroid of ovarian cancer. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban* **45**, 240-244 (2014).
159. Ellis, V., Scully, M.F. & Kakkar, V.V. Plasminogen activation initiated by single-chain urokinase-type plasminogen activator. Potentiation by U937 monocytes. *J Biol Chem* **264**, 2185-2188 (1989).
160. Grunnet, M., *et al.* Prognostic significance of circulating intact and cleaved forms of urokinase plasminogen activator receptor in inoperable chemotherapy treated cholangiocarcinoma patients. *Clin Biochem* **47**, 599-604 (2014).

161. Soravia, E., *et al.* A conserved TATA-less proximal promoter drives basal transcription from the urokinase-type plasminogen activator receptor gene. *Blood* **86**, 624-635 (1995).
162. Vassalli, J.D., Baccino, D. & Belin, D. A cellular binding site for the Mr 55,000 form of the human plasminogen activator, urokinase. *J Cell Biol* **100**, 86-92 (1985).
163. Plesner, T., *et al.* Expression of the receptor for urokinase-type plasminogen activator in normal and neoplastic blood cells and hematopoietic tissue. *Am J Clin Pathol* **102**, 835-841 (1994).
164. Romer, J., *et al.* The receptor for urokinase-type plasminogen activator is expressed by keratinocytes at the leading edge during re-epithelialization of mouse skin wounds. *J Invest Dermatol* **102**, 519-522 (1994).
165. Solberg, H., Ploug, M., Hoyer-Hansen, G., Nielsen, B.S. & Lund, L.R. The murine receptor for urokinase-type plasminogen activator is primarily expressed in tissues actively undergoing remodeling. *J Histochem Cytochem* **49**, 237-246 (2001).
166. Ferrier, C.M., *et al.* Spitz naevi may express components of the plasminogen activation system. *J Pathol* **198**, 92-99 (2002).
167. Romer, J., Pyke, C., Lund, L.R., Ralfkiaer, E. & Dano, K. Cancer cell expression of urokinase-type plasminogen activator receptor mRNA in squamous cell carcinomas of the skin. *J Invest Dermatol* **116**, 353-358 (2001).
168. Pierleoni, C., Castellucci, M., Kaufmann, P., Lund, L.R. & Schnack Nielsen, B. Urokinase receptor is up-regulated in endothelial cells and macrophages associated with fibrinoid deposits in the human placenta. *Placenta* **24**, 677-685 (2003).
169. Pierleoni, C., *et al.* Immunohistochemical identification of the receptor for urokinase plasminogen activator associated with fibrin deposition in normal and ectopic human placenta. *Placenta* **19**, 501-508 (1998).
170. Bauer, T.W., *et al.* Targeting of urokinase plasminogen activator receptor in human pancreatic carcinoma cells inhibits c-Met- and insulin-like growth factor-I receptor-mediated migration and invasion and orthotopic tumor growth in mice. *Cancer Res* **65**, 7775-7781 (2005).
171. Lindberg, P., Larsson, A. & Nielsen, B.S. Expression of plasminogen activator inhibitor-1, urokinase receptor and laminin gamma-2 chain is an early

- coordinated event in incipient oral squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* **118**, 2948-2956 (2006).
172. Nielsen, B.S., Rank, F., Illemann, M., Lund, L.R. & Dano, K. Stromal cells associated with early invasive foci in human mammary ductal carcinoma in situ coexpress urokinase and urokinase receptor. *Int J Cancer* **120**, 2086-2095 (2007).
173. Yang, L., *et al.* Molecular imaging of pancreatic cancer in an animal model using targeted multifunctional nanoparticles. *Gastroenterology* **136**, 1514-1525 e1512 (2009).
174. Zhang, L., Zhao, Z.S., Ru, G.Q. & Ma, J. Correlative studies on uPA mRNA and uPAR mRNA expression with vascular endothelial growth factor, microvessel density, progression and survival time of patients with gastric cancer. *World J Gastroenterol* **12**, 3970-3976 (2006).
175. Akahane, T., Ishii, M., Ohtani, H., Nagura, H. & Toyota, T. Stromal expression of urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) is associated with invasive growth in primary liver cancer. *Liver* **18**, 414-419 (1998).
176. Dubuisson, L., *et al.* Expression and cellular localization of the urokinase-type plasminogen activator and its receptor in human hepatocellular carcinoma. *J Pathol* **190**, 190-195 (2000).
177. Miyake, H., *et al.* Elevation of serum levels of urokinase-type plasminogen activator and its receptor is associated with disease progression and prognosis in patients with prostate cancer. *Prostate* **39**, 123-129 (1999).
178. Chen, J., *et al.* The C-terminal unique region of desmoglein 2 inhibits its internalization via tail-tail interactions. *J Cell Biol* **199**, 699-711 (2012).
179. Schafer, S., Koch, P.J. & Franke, W.W. Identification of the ubiquitous human desmoglein, Dsg2, and the expression catalogue of the desmoglein subfamily of desmosomal cadherins. *Exp Cell Res* **211**, 391-399 (1994).
180. Tselepis, C., Chidgey, M., North, A. & Garrod, D. Desmosomal adhesion inhibits invasive behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* **95**, 8064-8069 (1998).
181. Buxton, R.S., *et al.* Nomenclature of the desmosomal cadherins. *J Cell Biol* **121**, 481-483 (1993).
182. Biedermann, K., *et al.* Desmoglein 2 is expressed abnormally rather than mutated in familial and sporadic gastric cancer. *J Pathol* **207**, 199-206 (2005).

183. Yashiro, M., Nishioka, N. & Hirakawa, K. Decreased expression of the adhesion molecule desmoglein-2 is associated with diffuse-type gastric carcinoma. *Eur J Cancer* **42**, 2397-2403 (2006).
184. Kurzen, H., Munzing, I. & Hartschuh, W. Expression of desmosomal proteins in squamous cell carcinomas of the skin. *J Cutan Pathol* **30**, 621-630 (2003).
185. Brennan, D., *et al.* Suprabasal Dsg2 expression in transgenic mouse skin confers a hyperproliferative and apoptosis-resistant phenotype to keratinocytes. *J Cell Sci* **120**, 758-771 (2007).
186. Ramani, V.C., Hennings, L. & Haun, R.S. Desmoglein 2 is a substrate of kallikrein 7 in pancreatic cancer. *BMC Cancer* **8**, 373 (2008).
187. Awad, M.M., *et al.* DSG2 mutations contribute to arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *Am J Hum Genet* **79**, 136-142 (2006).
188. Pilichou, K., *et al.* Mutations in desmoglein-2 gene are associated with arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Circulation* **113**, 1171-1179 (2006).
189. Bernard, M., *et al.* Cloning and sequencing of pro-alpha 1 (XI) collagen cDNA demonstrates that type XI belongs to the fibrillar class of collagens and reveals that the expression of the gene is not restricted to cartilagenous tissue. *J Biol Chem* **263**, 17159-17166 (1988).
190. Yoshioka, H., *et al.* Structural and functional analysis of the promoter of the human alpha 1(XI) collagen gene. *J Biol Chem* **270**, 418-424 (1995).
191. Acke, F.R., Dhooge, I.J., Malfait, F. & De Leenheer, E.M. Hearing impairment in Stickler syndrome: a systematic review. *Orphanet J Rare Dis* **7**, 84 (2012).
192. Khalifa, O., *et al.* A recessive form of Marshall syndrome is caused by a mutation in the COL11A1 gene. *J Med Genet* **49**, 246-248 (2012).
193. Tompson, S.W., *et al.* Fibrochondrogenesis results from mutations in the COL11A1 type XI collagen gene. *Am J Hum Genet* **87**, 708-712 (2010).
194. Kleman, J.P., Hartmann, D.J., Ramirez, F. & van der Rest, M. The human rhabdomyosarcoma cell line A204 lays down a highly insoluble matrix composed mainly of alpha 1 type-XI and alpha 2 type-V collagen chains. *Eur J Biochem* **210**, 329-335 (1992).
195. Erkan, M., *et al.* Organ-, inflammation- and cancer specific transcriptional fingerprints of pancreatic and hepatic stellate cells. *Mol Cancer* **9**, 88 (2010).

196. Zhao, Y., *et al.* A potential role of collagens expression in distinguishing between premalignant and malignant lesions in stomach. *Anat Rec (Hoboken)* **292**, 692-700 (2009).
197. Bowen, K.B., *et al.* Immunohistochemical localization of collagen type XI alpha1 and alpha2 chains in human colon tissue. *J Histochem Cytochem* **56**, 275-283 (2008).
198. Fischer, H., *et al.* COL11A1 in FAP polyps and in sporadic colorectal tumors. *BMC Cancer* **1**, 17 (2001).
199. Fischer, H., Stenling, R., Rubio, C. & Lindblom, A. Colorectal carcinogenesis is associated with stromal expression of COL11A1 and COL5A2. *Carcinogenesis* **22**, 875-878 (2001).
200. Freire, J., *et al.* Collagen, type XI, alpha 1: an accurate marker for differential diagnosis of breast carcinoma invasiveness in core needle biopsies. *Pathol Res Pract* **210**, 879-884 (2014).
201. Chong, I.W., *et al.* Great potential of a panel of multiple hMTH1, SPD, ITGA11 and COL11A1 markers for diagnosis of patients with non-small cell lung cancer. *Oncol Rep* **16**, 981-988 (2006).
202. Algaba, F. Carcinoma renal in *Atlas de patología de los tumores urogenitales*. 13-15 (Pulso Barcelona, 1991).
203. Medina Lopez, R.A., *et al.* Prognostic factors in renal cell carcinoma. *Actas Urol Esp* **33**, 575-583 (2009).
204. Onishi, T., Oishi, Y., Goto, H., Yanada, S. & Abe, K. Gender as a prognostic factor in patients with renal cell carcinoma. *BJU Int* **90**, 32-36 (2002).
205. Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER). *National Cancer Institute* **nov**(2013).
206. Walter, R.B., Brasky, T.M., Buckley, S.A., Potter, J.D. & White, E. Height as an explanatory factor for sex differences in human cancer. *J Natl Cancer Inst* **105**, 860-868 (2013).
207. Algaba, F., Arce, Y., Trias, I., Santaularia, J.M. & Antonio Rosales, A. Usefulness of the present renal cell carcinoma classifications. *Actas Urol Esp* **30**, 372-385 (2006).
208. Renshaw, A.A. Subclassification of renal cell neoplasms: an update for the practising pathologist. *Histopathology* **41**, 283-300 (2002).

209. Schraml, P., *et al.* VHL mutations and their correlation with tumour cell proliferation, microvessel density, and patient prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *J Pathol* **196**, 186-193 (2002).
210. Arguelles Salido, E., Medina Lopez, R.A., Congregado Ruiz, C.B., Cayuela Dominguez, A. & Pascual del Pobil Moreno, J.L. Analysis of renal neoplasms in adult patients under 40. *Actas Urol Esp* **28**, 335-340 (2004).
211. Gomez de Vicente, J.M., *et al.* Epidemiologic analysis of clear cell and chromophilic carcinoma of the kidney. *Actas Urol Esp* **27**, 22-25 (2003).
212. Guinan, P., *et al.* TNM staging of renal cell carcinoma: Workgroup No. 3. Union International Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* **80**, 992-993 (1997).
213. Gimenez Bachs, J.M., *et al.* Prognostic-factor-related survival in a series of patients with renal cell carcinoma. *Arch Esp Urol* **60**, 1 167-161 174 (2007).
214. Sanchez Zalabardo, D., *et al.* Prognosis factors in pT3 renal carcinoma. *Actas Urol Esp* **27**, 26-32 (2003).
215. Kurban, G., *et al.* Diagnosis and treatment of small renal masses: the role for molecular biology. *Arch Esp Urol* **66**, 505-516 (2013).
216. Bertini, R., *et al.* Renal sinus fat invasion in pT3a clear cell renal cell carcinoma affects outcomes of patients without nodal involvement or distant metastases. *J Urol* **181**, 2027-2032 (2009).
217. Poon, S.A., Gonzalez, J.R., Benson, M.C. & McKiernan, J.M. Invasion of renal sinus fat is not an independent predictor of survival in pT3a renal cell carcinoma. *BJU Int* **103**, 1622-1625 (2009).
218. Arnoux, V., Lechevallier, E., Pamela, A., Long, J.A. & Rambeaud, J.J. Sarcomatoid renal cell carcinoma. *Prog Urol* **23**, 430-437 (2013).
219. Dolezal, P., Sieso Gracia, M.A., Espilet Ortiz ,R., Sanz velez, J.I., Carcinoma renal sarcomatoide. Una variante poco común. *XXIX Reunión nacional grupo urología oncológica*, 82 (2014).
220. Benatiya, M.A., *et al.* Renal oncocytoma: experience of Clinical Urology A, Urology Department, CHU Ibn Sina, Rabat, Morocco and literature review. *Pan Afr Med J* **12**, 84 (2012).
221. Frank, I., *et al.* An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score. *J Urol* **168**, 2395-2400 (2002).

222. Mejean, A., Oudard, S. & Thiounn, N. Prognostic factors of renal cell carcinoma. *J Urol* **169**, 821-827 (2003).
223. Dall'Oglio, M.F., *et al.* Impact of clinicopathological parameters in patients treated for renal cell carcinoma. *J Urol* **177**, 1687-1691 (2007).
224. Patard, J.J., *et al.* Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. *J Clin Oncol* **23**, 2763-2771 (2005).
225. Arguelles Salido, E., *et al.* Renal oncocytoma. Review of our 22 patients. *Actas Urol Esp* **30**, 583-590 (2006).
226. Gudbjartsson, T., *et al.* Renal oncocytoma: a clinicopathological analysis of 45 consecutive cases. *BJU Int* **96**, 1275-1279 (2005).
227. Basilio-de leo, C.I. Resultados del tratamiento quirúrgico del cáncer de células renales. Análisis de un cohorte de 370 casos. *Rev Mex Urol* **72**, 151-156 (2012).
228. Lee, W.K., *et al.* Characteristics and prognostic value of papillary histologic subtype in nonmetastatic renal cell carcinoma in Korea: a multicenter study. *Urol J* **11**, 1884-1890 (2014).
229. Salama, M.E., Worsham, M.J. & DePeralta-Venturina, M. Malignant papillary renal tumors with extensive clear cell change: a molecular analysis by microsatellite analysis and fluorescence in situ hybridization. *Arch Pathol Lab Med* **127**, 1176-1181 (2003).
230. Herranz- Amo, F. *Tumores de riñón*, (Doyma, 2001).
231. Gimenez Bachs, J.M., *et al.* Growing incidence in renal cell carcinoma. *Actas Urol Esp* **30**, 295-300 (2006).
232. Gomez Perez, L., *et al.* Evaluation of pT3a stage in the current classification for renal cancer. *Actas Urol Esp* **30**, 287-294 (2006).
233. Motzer, R.J., *et al.* Prognostic factors for survival in previously treated patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* **22**, 454-463 (2004).
234. Cindolo, L., *et al.* A preoperative clinical prognostic model for non-metastatic renal cell carcinoma. *BJU Int* **92**, 901-905 (2003).
235. Karakiewicz, P.I. & Hutterer, G.C. Predicting outcomes in patients with urologic cancers. *Curr Opin Support Palliat Care* **1**, 153-168 (2007).
236. Budia Alba, A., *et al.* Prognostic factors for disease progression in patients with renal cell carcinoma. *Actas Urol Esp* **31**, 831-844 (2007).
237. Haas, D.C., *et al.* Age-dependent associations between sleep-disordered breathing and hypertension: importance of discriminating between

- systolic/diastolic hypertension and isolated systolic hypertension in the Sleep Heart Health Study. *Circulation* **111**, 614-621 (2005).
238. Takiuchi, H., *et al.* Expression of integrin molecule in urological tumor cell lines by using RT-PCR method. *Nihon Hinyokika Gakkai Zasshi* **85**, 584-588 (1994).
239. Gilmore, A.P. Anoikis. *Cell Death Differ* **12 Suppl 2**, 1473-1477 (2005).
240. Luo, B.H., Carman, C.V. & Springer, T.A. Structural basis of integrin regulation and signaling. *Annu Rev Immunol* **25**, 619-647 (2007).
241. Naranjo, A., Noguera-Salvá, R. & Fariñas- Guerrero, F. La matriz extracelular: morfología, función y biotensegridad (parte I). *REV ESP PATOL* **42**, 249-261 (2009).
242. Rissanen, J., Korhonen, M., Lehto, V.P. & Virtanen, I. Laminin alpha1 chain in human renal cell carcinomas and integrin-mediated adhesion of renal cell carcinoma cells to human laminin isoforms. *J Pathol* **200**, 157-167 (2003).
243. Terpe, H.J., Tajrobehkar, K., Gunthert, U. & Altmannsberger, M. Expression of cell adhesion molecules alpha-2, alpha-5 and alpha-6 integrin, E-cadherin, N-CAM and CD-44 in renal cell carcinomas. An immunohistochemical study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* **422**, 219-224 (1993).
244. Shamloo, A., Nikbin, E., Mehboudi, N. & Damirchi, B. Homo-oligomerization of transmembrane alpha-domain of integrin. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* **2014**, 1162-1165 (2014).
245. Haider, S., *et al.* A multi-gene signature predicts outcome in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genome Med* **6**, 105 (2014).
246. Kowalczyk, O., *et al.* CXCL5 as a potential novel prognostic factor in early stage non-small cell lung cancer: results of a study of expression levels of 23 genes. *Tumour Biol* **35**, 4619-4628 (2014).
247. Qin, L., *et al.* NCOA1 promotes angiogenesis in breast tumors by simultaneously enhancing both HIF1alpha- and AP-1-mediated VEGF transcription. *Oncotarget* **6**, 23890-23904 (2015).
248. Mena, E., *et al.* Fluciclatide in the in vivo evaluation of human melanoma and renal tumors expressing alphavbeta 3 and alpha vbeta 5 integrins. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* **41**, 1879-1888 (2014).
249. Fang, W.K., *et al.* Prognostic significance of desmoglein 2 and desmoglein 3 in esophageal squamous cell carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* **15**, 871-876 (2014).

250. Wadhawan, V., Kolhe, Y.A., Sangith, N., Gautam, A.K. & Venkatraman, P. From prediction to experimental validation: desmoglein 2 is a functionally relevant substrate of matriptase in epithelial cells and their reciprocal relationship is important for cell adhesion. *Biochem J* **447**, 61-70 (2012).
251. Vargas, A.C., *et al.* Gene expression profiling of tumour epithelial and stromal compartments during breast cancer progression. *Breast Cancer Res Treat* **135**, 153-165 (2012).
252. Wu, Y.H., Chang, T.H., Huang, Y.F., Huang, H.D. & Chou, C.Y. COL11A1 promotes tumor progression and predicts poor clinical outcome in ovarian cancer. *Oncogene* **33**, 3432-3440 (2014).
253. Anastassiou, D., *et al.* Human cancer cells express Slug-based epithelial-mesenchymal transition gene expression signature obtained in vivo. *BMC Cancer* **11**, 529 (2011).
254. Pilarsky, C., *et al.* Activation of Wnt signalling in stroma from pancreatic cancer identified by gene expression profiling. *J Cell Mol Med* **12**, 2823-2835 (2008).
255. Galvan, J.A., *et al.* Validation of COL11A1/procollagen 11A1 expression in TGF-beta1-activated immortalised human mesenchymal cells and in stromal cells of human colon adenocarcinoma. *BMC Cancer* **14**, 867 (2014).
256. Garcia-Ocana, M., *et al.* Characterization of a novel mouse monoclonal antibody, clone 1E8.33, highly specific for human procollagen 11A1, a tumor-associated stromal component. *Int J Oncol* **40**, 1447-1454 (2012).
257. Vazquez-Villa, F., *et al.* COL11A1/(pro)collagen 11A1 expression is a remarkable biomarker of human invasive carcinoma-associated stromal cells and carcinoma progression. *Tumour Biol* **36**, 2213-2222 (2015).
258. Cueva-Cayetano, R., Galván-Hernández, J.A., Suárez-Fernández, L., Menéndez-Rodríguez, M.P., García-Pravia, C., Barneo, L., . El análisis preliminar de colágeno, el tipo XI, alfa 1 (COL11A1), alfa inhibina (INHBA) y la proteína secretada ácida y rica en cisteína (SPARC, osteonectina) como posibles marcadores de cáncer de colon. *Brit J Surg* **100**, 7 (2013).
259. Garcia-Pravia, C., *et al.* Overexpression of COL11A1 by cancer-associated fibroblasts: clinical relevance of a stromal marker in pancreatic cancer. *PLoS One* **8**, e78327 (2013).
260. Halsted, K.C., *et al.* Collagen alpha1(XI) in normal and malignant breast tissue. *Mod Pathol* **21**, 1246-1254 (2008).

261. Bhuvaramurthy, V., *et al.* In situ gene expression of urokinase-type plasminogen activator and its receptor in transitional cell carcinoma of the human bladder. *Oncol Rep* **12**, 909-913 (2004).
262. Cantor, D.I., Cheruku, H.R., Nice, E.C. & Baker, M.S. Integrin alphavbeta6 sets the stage for colorectal cancer metastasis. *Cancer Metastasis Rev* **34**, 715-734 (2015).
263. Rubio-Jurado, B., *et al.* Circulating Levels of Urokinase-Type Plasminogen Activator Receptor and D-Dimer in Patients With Hematological Malignancies. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* **15**, 621-626 (2015).
264. Fuessel, S., *et al.* Prognostic impact of urokinase-type plasminogen activator system components in clear cell renal cell carcinoma patients without distant metastasis. *BMC Cancer* **14**, 974 (2014).
265. Ohba, K., *et al.* Expression of urokinase-type plasminogen activator, urokinase-type plasminogen activator receptor and plasminogen activator inhibitors in patients with renal cell carcinoma: correlation with tumor associated macrophage and prognosis. *J Urol* **174**, 461-465 (2005).
266. Bhuvaramurthy, V., *et al.* Differential gene expression of urokinase-type plasminogen activator and its receptor in human renal cell carcinoma. *Oncol Rep* **14**, 777-782 (2005).
267. Dublin, E., Hanby, A., Patel, N.K., Liebman, R. & Barnes, D. Immunohistochemical expression of uPA, uPAR, and PAI-1 in breast carcinoma. Fibroblastic expression has strong associations with tumor pathology. *Am J Pathol* **157**, 1219-1227 (2000).
268. Folgueira, M.A., *et al.* Markers of breast cancer stromal fibroblasts in the primary tumour site associated with lymph node metastasis: a systematic review including our case series. *Biosci Rep* **33**(2013).
269. Hildenbrand, R. & Schaaf, A. The urokinase-system in tumor tissue stroma of the breast and breast cancer cell invasion. *Int J Oncol* **34**, 15-23 (2009).
270. Malinowsky, K., *et al.* UPA and PAI-1 analysis from fixed tissues - new perspectives for a known set of predictive markers. *Curr Med Chem* **17**, 4370-4377 (2010).

