

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



**VALOR PREDICTIVO DE PRONÓSTICO DE LA
INMUNOEXPRESIÓN DE MARCADORES
RELACIONADOS CON LA ANGIOGÉNESIS EN EL
CARCINOMA DE CÉLULAS RENALES.**

TESIS DOCTORAL

FRANCISCO JAVIER ORTIZ VICO

2009

*A Laura, que a sus seis años, la
palabra "tesis" forma parte de su
vocabulario.*

*A Begoña por su paciencia y
comprensión por el tiempo que le he
robado en estos años.*

A mis padres, con todo mi cariño.

Al Profesor Manuel Sánchez Chapado, Director de esta Tesis, con quien tengo el honor de compartir trabajo día a día, por mantener la ilusión y fomentar el esfuerzo; sin su perseverancia este trabajo no hubiera visto la luz.

Al Profesor Oscar Leiva, en este año que finaliza su bagaje como Jefe de Servicio del Hospital 12 de Octubre. Fue mi primer maestro y a él debo lo que soy como urólogo.

A la Dra. Ana Blasco, por su inestimable colaboración en el trabajo anatomopatológico que esta tesis conlleva.

Al Dr. David Hardisson, como codirector de esta tesis por su desinteresada colaboración y su indispensable trabajo como patólogo.

A la Dra. Cristina Fernández, codirectora de este trabajo, por sus enseñanzas y su manejo estadístico.

A todos mis compañeros en el Hospital Universitario Príncipe de Asturias por su apoyo, en especial al Dr. José Manuel Hontoria, con quien comencé este periplo y a la Dra. Carmen Santiago por la ayuda que me ha prestado.

Al Dr. Juan Carlos Tamayo por sus inestimables consejos.

A los residentes del Servicio de Urología que hacen que el estudio y la formación sean un continuo en nuestro trabajo diario.

A los antiguos compañeros que pasaron por este Servicio, cuya amistad aún permanece.

A la Dra. Olga Fernández por su colaboración cuando la necesité.

A Carmen, secretaria del Servicio, por su infatigable ayuda.

ABREVIATURAS

- ACTH: Hormona adrenocorticotropa.
- AgNOR: proteínas asociadas a las regiones organizadoras nucleolares argirófilas.
- BHD: Birt-Hogg-Dubé.
- bHLH: *basic helix-loop-helix* / bucle hélice-hélice de tipo básico.
- CAIX: Anhidrasa carbónica IX.
- CAM: Molécula de adhesión celular.
- CCR: Carcinoma de células renales.
- DIABLO: *Direct IAP binding protein with low pI* / proteína con bajo pI de unión directa a las proteínas inhibidoras de apoptosis .
- DMV: Densidad microvascular.
- ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group* / Grupo cooperativo oncológico oriental.
- EE: Error estándar.
- EGF: Factor de crecimiento epidérmico.
- EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico.
- FAK: Kinasa de adhesión focal.
- FGF: Factor de crecimiento de los fibroblastos.
- FH: Fumarato hidratasa.
- FHIT: *Fragile histidine triad* / triada de la histidina frágil.
- FPTC-PRN: Carcinoma papilar familiar tiroideo y tumor papilar renal.
- GTP: Glutamil transpeptidasa.
- HGFR: Receptor del factor de crecimiento del hepatocito.
- HIF: Factor inducido por hipoxia.
- HLRCC: Leiomiomatosis hereditaria y cáncer renal familiar, síndrome de.
- HPH: Hidroprolil hidroxilasa.
- HPT-JT: Hiperparatiroidismo-tumor mandibular, síndrome de.
- HR: Hazard Ratio / Razón de tasas.
- IAP: Proteínas inhibidoras de apoptosis.
- IC: Intervalo de confianza.
- IFN: Interferón.
- IGF: Factor de crecimiento de insulina.
- IGFR: Receptor del factor de crecimiento de insulina.
- IL: Interleukina.
- ILE: Intervalo libre de enfermedad.
- iNOS: sintasa inducible del ácido nítrico.
- KS: Escala de Karnofsky.
- LOH: Pérdida de heterocigosidad.
- MAPK: Proteína kinasa mitógeno-activada.
- MDR: *Multidrug resistance gen* / gen de resistencia a múltiples drogas.
- MMP: Metaloproteasa de matriz.

- m-TOR: *mammalian Target of Rapamycin* / Diana de la rapamicina en mamíferos.
- NGF: Factor de crecimiento derivado de neuronas.
- ODD: Dominio de degradación dependiente de oxígeno.
- OMS: Organización mundial de la Salud.
- PAS: Per/ARNt (*aryl hydrocarbon nuclear transporter*)/Sim.
- PCNA: Antígeno nuclear de proliferación celular.
- PCR: Reacción de polimerasa en cadena.
- PDGF: Factor de crecimiento derivado de plaquetas.
- PDGFR: Receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas.
- PGF: Factor de crecimiento placentario.
- PIP: Fosfatidil-inositol-fosfato.
- PKB: Proteína kinasa B (AKT).
- PLAU: Activador del plasminógeno de tipo uroquinasa.
- PLAUR: Receptor del activador del plasminógeno de tipo uroquinasa.
- PIGF: Factor de crecimiento placentario.
- PET: Tomografía por emisión de positrones.
- PTEN: Fosfatasa y homólogo de tensina con delección en el cromosoma 10.
- PTH: Paratohormona.
- pVHL: Proteína Von Hippel Lindau.
- RTK: receptores tirosin-kinasa.
- STAT: proteínas transductoras de señal y activadoras de la transcripción.
- TAC: Tomografía axial computarizada.
- TMA: *Tissue microarrays*/ microseries de tejido.
- TCR: Receptores de células T.
- TGF: Factor de crecimiento transformante.
- TK: tirosin-kinasa.
- TSC: Complejo esclerosis tuberosa.
- VEGF: Factor de crecimiento vascular del endotelio.
- VEGFR: Receptor del factor de crecimiento vascular del endotelio.
- VHL: Von Hippel Lindau.
- VPF: Factor de permeabilidad vascular (VEGF).

I. INTRODUCCIÓN.

1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CARCINOMA DE CÉLULAS RENALES	8
2. ETIOLOGIA: SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA Y FACTORES DE RIESGO	9
2.1 Alteraciones genéticas en CCR	9
3. HISTOPATOLOGÍA. CLASIFICACIÓN DE LOS CCR	14
3.1 Carcinoma de células claras	16
3.2 Carcinoma renal papilar	18
3.3 Carcinoma renal de células cromóforas	20
3.4 Carcinoma de los conductos colectores de Bellini	22
3.5 Carcinoma renal medular	23
3.6 Carcinoma mucinoso tubular y fusocelular	24
3.7 Carcinomas renales inclasificables	24
4. ASPECTOS CLÍNICOS DEL CCR	25
4.1 Síntomas	25
4.2 Diagnóstico.....	25
4.2.1 <i>Screening</i> en el CCR	25
4.2.2 Diagnóstico por imagen	27
4.3 Tratamiento quirúrgico	27
4.4 Tratamientos alternativos	29
4.5 Tratamientos sistémicos	29
5. FACTORES PRONÓSTICOS EN EL CCR	32
5.1 Factores dependientes del paciente	32
5.1.1 Estatus clínico	32
5.1.2 Parámetros hematológicos y bioquímicos	35
5.2 Factores tumor dependientes	35
5.2.1 Subtipo tumoral	35
5.2.2 Grado nuclear	36
5.2.3 Estadificación tumoral. Clasificación.	39
5.2.4 Necrosis tumoral	42
5.2.5 Invasión del sistema colector	42
5.2.6 Patrón sarcomatoide	43
5.2.7 Invasión microvascular	43
5.2.8 Respuesta inflamatoria	44
5.2.9 Biomarcadores moleculares	45
5.2.9.1 Marcadores de apoptosis	48
5.2.9.2 Marcadores de proliferación/regulación del ciclo celular	49
5.2.9.3 Moléculas de adhesión celular	53
5.2.9.4 Marcadores de inmunomodulación	55
5.2.9.5 Moléculas de degradación de la matriz extracelular	56
5.2.9.6 Otros marcadores	56
5.2.9.7 Moléculas inducidas por hipoxia	56
6. ANGIOGÉNESIS E HIPOXIA	60
6.1 Angiogénesis	60
6.2 Reguladores de angiogénesis	61
6.3 Hipoxia y CCR	65
6.4 Biología del gen VHL	65

6.5 HIF y vía de respuesta a la hipoxia	67
6.6 Vías de señalización intracelular asociadas a HIF	70
6.6.1 Vía PI3K/AKT	70
6.6.2 Vía AKT-mTOR	71
6.6.3 Vía Ras/Raf/MAPK	73
6.7 Función del VEGF y VEGFR	74
6.8 Densidad microvascular (DMV)	79
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	
1.1 HIPÓTESIS	81
1.2 OBJETIVOS	82
III. MATERIAL Y MÉTODO	
1. MUESTRA	84
2. VARIABLES CLÍNICAS	85
3. ESTUDIO PATOLÓGICO	85
4. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO	86
4.1. Construcción de la matriz de tejidos	86
4.2. Estudio inmunohistoquímico de la expresión proteica	86
4.3. Medida de la expresión inmunohistoquímica	88
5. ESTUDIO ESTADÍSTICO	91
IV. RESULTADOS	
1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO	95
1.1 Características generales	95
1.2 Clínica al diagnóstico	95
1.3 Edad	96
1.4 Sexo	96
1.5 Situación	96
1.6 Estadio tumoral (pT)	96
1.7 Estadio ganglionar (pN)	97
1.8 Grado nuclear	98
1.9 Tipo histológico	98
1.10 Inmunoexpresión de CAIX	99
1.11 Inmunoexpresión VEGF	100
1.12 Inmunoexpresión de PTEN	100
1.13 Inmunoexpresión de p-AKT	102
1.14 Densidad microvascular	103
1.15 Inmunoexpresión Ki67	103
1.16 Inmunoexpresión de Bcl-2	104
1.17 Seguimiento	104
2. ESTADÍSTICA ANALÍTICA	104
2.1 Supervivencia	104
2.2 Sexo	105

2.3 Edad	105
2.4 Expresión clínica	106
2.5 Estadio pT	107
2.6 Estadio pN	108
2.7 Tipo histológico	108
2.8 Grado nuclear	109
2.9 Supervivencia e inmunexpresión tisular	110
2.9.1 CAIX	110
2.9.2 VEGF	110
2.9.3 PTEN	112
2.9.3.1 Porcentaje de células que expresan PTEN	112
2.9.3.2 Intensidad de expresión	113
2.9.3.3 PTEN citoplasmático	114
2.9.4 P-AKT	115
2.9.4.1 Porcentaje de células que expresan p-AKT	115
2.9.4.2 Intensidad de expresión	117
2.9.5 Densidad Microvascular	118
2.9.6 Ki 67	118
2.9.7 BCL-2	120
2.10 Intervalo libre de enfermedad	120
2.11 Recidiva y Edad	120
2.12 Recidiva tumoral y expresión clínica	121
2.13 Recidiva tumoral y estadio pT	122
2.14 Recidiva tumoral y estadio pN	123
2.15 Recidiva tumoral y tipo histológico	124
2.16 Recidiva tumoral y grado nuclear	125
2.17 Recidiva tumoral e inmunexpresión tisular	126
2.17.1 Anhidrasa carbónica IX	126
2.17.2 VEGF	128
2.17.3 PTEN	129
2.17.3.1 Porcentaje de células que expresan PTEN	129
2.17.3.2 Intensidad de expresión	130
2.17.3.3 PTEN citoplasmático	131
2.17.4 p-AKT	133
2.17.4.1 Porcentaje de células que expresan p-AKT	133
2.17.4.2 Intensidad de expresión	135
2.17.5 Densidad microvascular	137
2.17.6 Expresión de Ki67	137
2.17.7 Expresión de Bcl-2	139
2.18 Análisis estratificado de las variables	140
2.18.1 CAIX	140
2.18.2 VEGF	141
2.18.3 PTEN	144
2.18.4 P-AKT	145
2.18.5 Ki 67	146

3.	ANÁLISIS MULTIVARIABLE	149
3.1	Análisis multivariable para estudio de supervivencia en pacientes con carcinoma renal	149
3.2	Análisis multivariable para estudio de intervalo libre de enfermedad en pacientes con carcinoma renal	151
3.3	Análisis multivariable para estudio de supervivencia en pacientes con carcinoma renal de células claras	153
3.4	Modelo multivariable para estudio de intervalo libre de enfermedad en pacientes con carcinoma renal de células claras	155
V.	DISCUSIÓN	158
VI.	CONCLUSIONES	182
VII.	BIBLIOGRAFÍA	184

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN.

1. EPIDEMIOLOGÍA DEL CARCINOMA DE CÉLULAS RENALES.

La incidencia del cáncer de células renales (CCR) se ha incrementado en el mundo en los últimos años. En Europa se estima que se diagnostican aproximadamente 40.000 nuevos casos al año, 3.000 de ellos en España, y es responsable de más de 20.000 fallecimientos cada año ¹. La tasa de incidencia en países desarrollados se sitúa en torno a los 12 casos por 100.000 habitantes en varones y 5 casos por 100.000 habitantes en mujeres. Supone aproximadamente entre el 2 y el 3% del total de los tumores diagnosticados en el adulto ². Este incremento gradual se estima en una tasa del 2.5% al año en todos los grupos de población, con un mayor incremento en el grupo de tumores organoconfinados ^{3,4,5}.

Es un tumor altamente agresivo y está considerado como el más letal de los tumores urológicos malignos, con una mortalidad mayor del 40% ⁶. La tercera parte de los CCR se diagnostican en estadio metastásico y hasta el 40% de los pacientes sometidos a nefrectomía con intención curativa en tumores organoconfinados desarrollan recidiva local o metástasis a distancia en su evolución ⁷.

A pesar del aumento del número de tumores diagnosticados de forma incidental con la mejoría y la generalización de técnicas de imagen como la ecografía y la Tomografía Axial Computarizada (TAC), la incidencia de tumores avanzados y la mortalidad por este tumor continúan en ascenso ⁸.

El desarrollo de nuevas técnicas terapéuticas, no sustituye a la cirugía como la única terapia curativa. Por ello, es indudable la necesidad de diagnosticar el CCR en estadios precoces y desarrollar estrategias terapéuticas más eficaces,

así como definir nuevos marcadores que mejoren y permitan predecir la evolución y la respuesta a estos tratamientos.

2. ETIOLOGÍA: SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA Y FACTORES DE RIESGO.

El CCR es un tumor con una predominio hombre-mujer de 1,6-2 a 1 y un pico de incidencia en la 6ª y 7ª década de la vida ⁶. Está documentada la susceptibilidad genética en este tipo de tumores, así como la posibilidad de aparición de forma esporádica; las alteraciones genéticas y el perfil molecular que se asocia a los diferentes tipos histológicos son distintos. Además, en algunos casos estos tumores son parte de diversos síndromes que asocian otras anomalías y tumores benignos y/o malignos, también distintos según el tipo celular.

2.1 ALTERACIONES GENÉTICAS EN CCR.

El CCR familiar más frecuente es el que forma parte de la enfermedad de Von Hippel Lindau (VHL). Existen otros cuadros no relacionados con él, de tipo familiar o no, relacionados con alteraciones genéticas concretas que desembocan finalmente en la aparición de un CCR. En los últimos años se han descubierto relaciones de alteraciones cromosómicas y el tipo histológico del CCR. Cada vez parece más claro que el CCR engloba una serie de tumores histológicamente distintos, con diferentes alteraciones cromosómicas, diferentes células en su origen, diferentes marcadores y distintos comportamientos en su evolución.

Alteraciones genéticas conocidas:

- **Enfermedad de VHL.**

Enfermedad autosómica dominante. El gen de VHL se encuentra situado en el cromosoma 3p25-26. Asocia al CCR de células claras hemangiomas de retina, hemangioblastomas cerebelosos y de médula espinal, feocromocitomas, tumores neuroendocrinos de páncreas, cistoadenomas de epidídimo y tumores del saco endolinfático ⁹. La incidencia es de 1/36.000 nacimientos/año y el riñón se afecta en el 75% de los casos ¹⁰.

Según los órganos afectados se han descrito varios tipos:

- Tipo 1. Se pueden dar todas las manifestaciones referidas, excepto el feocromocitoma. Se relaciona con deleciones o mutaciones que implican la síntesis de una proteína truncada.
- Tipo 2. Alto riesgo de feocromocitoma. Se debe a sustituciones genéticas.
 - Tipo 2A. Bajo riesgo de CCR y tumores pancreáticos.
 - Tipo 2B. Se asocia a alto riesgo de todos los tumores del espectro VHL.
 - Tipo 2C. Con una predisposición casi exclusiva a desarrollar feocromocitoma.

- **Carcinoma renal familiar de células claras no relacionado con VHL con translocación de cromosoma 3.**

Se han objetivado alteraciones genéticas del tipo t(3;8) (p14; q24) lo que sugiere que el gen esté localizado en 3p14 (gen FHIT- "*fragile histidine triad*"). También se han encontrado alteraciones a nivel de 3q. Se ha propuesto un modelo de 3 pasos para el desarrollo del CCR. Inicialmente una translocación balanceada del cromosoma 3, posteriormente una pérdida no disfuncional que afectaría al segmento 3p y por último una inactivación somática por metilación o inactivación

del gen VHL remanente. Otros genes implicados podrían ser TRC8, DIRC2, DIRC3, LSAMP y NORE1A ¹¹.

Estos tumores renales, en general son multicéntricos y bilaterales y se pueden asociar a carcinomas de estómago, páncreas, vejiga y tiroides¹².

- **Carcinoma renal papilar hereditario (HPRC).**

Asociado a CCR papilares tipo 1, constituido por células basófilas, pequeñas y generalmente de bajo grado y poco agresivas. Se encuentra asociado a la activación del protooncogen c-met (7q31-34) que codifica al receptor del factor de crecimiento del hepatocito (HGFR) ^{13, 14, 15, 16}. Se presenta como múltiples tumores bilaterales, de aparición tardía (8ª década de la vida) y generalmente con bajo potencial metastásico. Puede asociarse a otros tumores de estómago, mama, páncreas, pulmón, piel, etc.

- **Síndrome familiar de hamartomas renales asociados a hiperparatiroidismo y tumor de mandíbula (HPT-JT).**

Trastorno autosómico dominante en el que estas patologías se asocian ocasionalmente a CCR papilar tipo 1. Ligado a genes en 1q21-q32 ¹⁷. Pueden existir lesiones renales no cancerosas como quistes renales, hamartomas, nefromas mesoblásticos y tumores de Wilms de aparición tardía ¹¹.

- **Complejo esclerosis tuberosa (TSC).**

Esta enfermedad en general viene dada por la aparición de angiomiolipomas renales, angiofibromas faciales, fibromas subungueales y cutáneos y lesiones maculosas hiperpigmentadas, en ocasiones pueden aparecer CCR de células claras. Su origen se

encuentra en la alteración de dos genes, el TSC1 (9q34) y TSC2 (16p13.3)¹⁸.

- **Síndrome de Birt-Hogg-Dubé (BHD).**

Caracterizado fundamentalmente por lesiones cutáneas (fibrofoliculomas, tricodiscomas y acrocordones), neumotórax espontáneo por quistes pulmonares y predisposición a la presencia de tumores renales benignos (oncocitoma) o malignos (CCR de tipo cromóforo). Ocasionalmente se han descrito otro tipo de tumores renales, de células claras e incluso papilares. El gen alterado (BHD) se encuentra en 17q12-q11.2. Dado que se ha identificado en estos pacientes una pérdida o una malformación de este gen, se deduce que actúa como gen supresor tumoral^{19, 20, 21, 22, 23}.

- **Síndrome de Leiomiomatosis hereditaria y cáncer renal familiar (HLRCC).**

Se caracteriza por la aparición de múltiples leiomiomas cutáneos y uterinos y carcinomas renales únicos o múltiples, en ocasiones bilaterales. Suelen ser CCR papilares de tipo 2, constituidos por células más grandes eosinófilas con núcleos pseudoestratificados. Son genéticamente más heterogéneos y pueden surgir de los tumores tipo 1²⁴. En general son tumores agresivos con alta capacidad metastásica y de aparición en edades tempranas (3^o-4^o década)²⁵. El origen está en una mutación o delección del gen de la fumarato hidratasa (FH), enzima del ciclo de Krebs. Su localización es 1q42.3-q44²⁶.

- **Carcinoma papilar familiar tiroideo y tumor papilar renal (FPTC-PRN).**

Raro síndrome cuyo gen común entre ambas enfermedades se encuentra en 1q21²⁷, sin que exista relación con el gen MET.

Independientemente del componente genético que puede tener el cáncer renal, se conocen otros factores de riesgo adquiridos y/o medioambientales que pueden contribuir a su desarrollo. El tabaco duplica la posibilidad de padecer un carcinoma renal y es responsable de aproximadamente un tercio de todos los casos^{28, 29, 30}. La obesidad también aumenta el riesgo, aproximadamente dos veces más, tanto en hombres como en mujeres; diversos estudios muestran una relación inversa entre el índice de masa corporal y la supervivencia³¹. Algunos trabajos muestran una posible relación etiológica entre la hipertensión arterial y el CCR³². Así mismo, están descritos otros posibles factores de riesgo, que probablemente tengan menor importancia, como origen de estos tumores: la toma prolongada de analgésicos (fenacetina y ácido acetilsalicílico)³³, las infecciones del tracto urinario³⁴, y diversos factores ginecológicos como la histerectomía previa y la multiparidad³⁵.

Distintos tóxicos de carácter ocupacional han sido implicados en la génesis de este tumor. El cadmio y el asbesto pueden actuar como carcinógenos en el CCR. El factor ocupacional más implicado es el petróleo y muchos de sus derivados. Se han descrito algunos factores protectores, una dieta baja en proteínas y rica en frutas y vegetales, el calcio y la vitamina E, así como la ingesta moderada de alcohol en mujeres^{36,37,38}.

La diálisis y el desarrollo de la enfermedad quística adquirida secundaria a ella en pacientes con insuficiencia renal crónica es un factor de riesgo para estos tumores. Se ha estimado en más de 30 veces la probabilidad de desarrollarlo en esta población respecto a la población general. Entre el 35 y el 50% de los pacientes en diálisis crónica pueden adquirir esta enfermedad quística, lo que hace de este grupo uno de muy alto riesgo. Suelen ser carcinomas limitados al riñón, múltiples y bilaterales hasta el 50% de los casos y suelen aparecer

típicamente a los 8-10 años del comienzo de la diálisis con una proporción hombre-mujer de 7 a 1^{39,40}.

3. HISTOPATOLOGÍA. CLASIFICACION DE LOS CCR.

Oberling y col.⁴¹ demostraron el origen tubular del carcinoma renal en 1960, lo que llevó a unificar las clasificaciones previas existentes hasta ese momento, bajo la denominación de adenocarcinoma renal, con los subtipos de células claras, granulares y de arquitectura tubular, papilar, quística y sarcomatoide. Thones⁴² describe un nuevo tumor, de morfología distinta al de células claras, con probable origen en las células intercalares de la nefrona distal, el carcinoma renal cromóforo. Kovacs mediante estudio cromosómico pone de manifiesto las correlaciones genéticas con el fenotipo histológico, lo que lleva a reclasificar estos tumores en la Clasificación de Heidelberg^{43,44}. En 2004 la OMS realiza la última clasificación en la que se aúnan características morfológicas y genéticas, poniendo de manifiesto ciertas variantes con inmunofenotipos distintos que dan lugar a implicaciones clínicas diferentes (Tabla 1)⁴⁵.

Tabla 1. Clasificación de los CCR (OMS, 2004)

Clasificación histológica de tumores renales (OMS)	
Tumores de células renales	
<ul style="list-style-type: none"> - Carcinoma de células claras (convencional) - Carcinoma de células claras multilocular - Carcinoma papilar - Carcinoma cromóforo - Carcinoma de conductos colectores de Bellini - Carcinoma medular renal 	<ul style="list-style-type: none"> - Carcinoma con translocación Xp11 - Carcinoma asociado con neuroblastoma - Carcinoma mucinoso tubular y de células fusiformes - Carcinoma de células renales inclasificable - Adenoma papilar - Oncocitoma
Tumores metanéfricos <ul style="list-style-type: none"> - Adenoma metanéfrico - Adenofibroma metanéfrico - Tumor estromal metanéfrico 	
Tumores nefroblásticos <ul style="list-style-type: none"> - Restos nefrogénicos - Nefroblastoma (y nefroblastoma quístico parcialmente diferenciado) 	
Tumores mesenquimales	
Principalmente pediátricos <ul style="list-style-type: none"> - Sarcoma de células claras - Tumor rabdoide - Nefroma mesoblástico congénito - Tumor renal osificante de la infancia 	Principalmente de adultos <ul style="list-style-type: none"> - Leiomioma (incluyendo los de la vena renal) - Angiosarcoma - Rbdomiosarcoma - Histiocitoma fibroso maligno - Hemangiopericitoma - Osteosarcoma - Leiomioma - Hemangioma - Angiomiolipoma y angiomiolipoma epitelioide - Linfangioma - Tumor de células yuxtglomerulares - Schwannoma - Tumor renomedular de células intersticiales (fibroma medular) - Tumor fibroso solitario
Tumores mixtos epiteliales y mesenquimales <ul style="list-style-type: none"> - Nefroma quístico - Tumor mixto epitelial y estromal - Sarcoma sinovial 	
Tumores neuroendocrinos <ul style="list-style-type: none"> - Carcinoide - Carcinoma neuroendocrino - Tumor neuroectodérmico primitivo - Neuroblastoma - Feocromocitoma 	
Tumores hematopoyéticos y linfoides <ul style="list-style-type: none"> - Linfoma - Leucemia - Plasmocitoma 	
Tumores de células germinales <ul style="list-style-type: none"> - Teratoma - Coriocarcinoma 	
Tumores metastásicos a riñón	

Basándonos en esta clasificación y según su origen:

- Procedente de la nefrona proximal:
 - Carcinoma renal de células claras.
- Procedentes de la nefrona distal cortical:
 - Carcinoma de células cromóforas.
 - Oncocitoma (benigno).
- Procedente de la nefrona distal medular.
 - Carcinoma de Bellini.
 - Carcinoma medular renal.
- Carcinomas inclasificables.

3.1 CARCINOMA DE CÉLULAS CLARAS.

Es el más frecuente de todos los subtipos, corresponde al 70-80% de todos los casos de series quirúrgicas ⁴⁴. Constituido por células de citoplasma claro por el contenido en lípidos y glucógeno. Pueden existir focos de tipo granular debido a mayor concentración de mitocondrias. Las células se distribuyen en masas sólidas con estroma capsular abundante, a veces de aspecto tubular y ocasionalmente microquístico, pudiendo observarse áreas de tipo papilar de forma aislada. En un 5% de los casos el patrón es fusocelular (sarcomatoide) ^{44, 46, 47}.

Aunque lo habitual es que sea una tumoración única en los casos esporádicos, en un 4% son multicéntricos y en un 3% bilaterales. Macroscópicamente es una tumoración amarillenta con una pseudocápsula que lo separa del tejido adyacente, por compresión de este. Suelen existir áreas hemorrágicas cicatriciales con calcificaciones y necrosis tumoral.

En ocasiones existen verdaderos quistes neoplásicos, son tumores con un pronóstico mejor, menos agresivos en su evolución. La OMS los ha clasificado de

forma independiente con forma clínico-patológica distinta, el carcinoma renal quístico multilocular ⁴⁶.

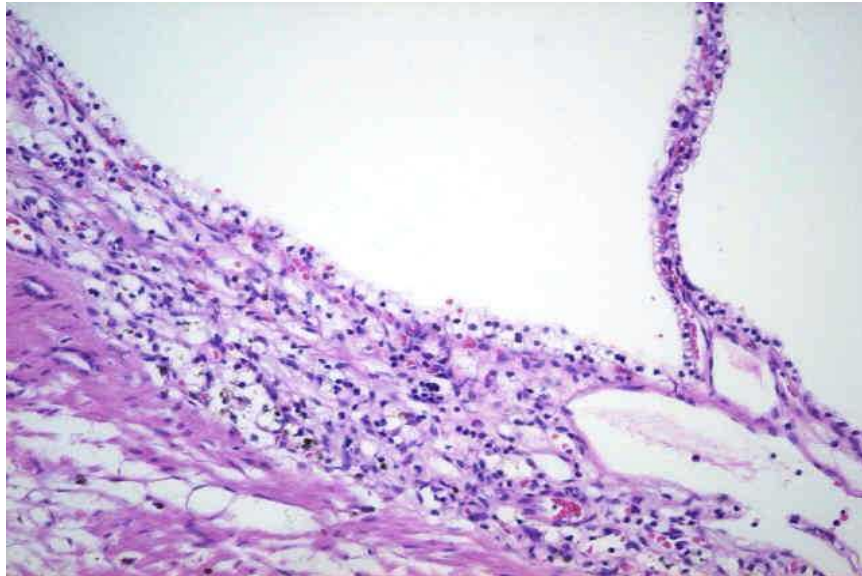


Fig. 1. Carcinoma renal quístico multilocular

Desde el punto de vista inmunohistoquímico expresa citoqueratinas de bajo peso molecular (CAM 5.2) de forma más frecuente que las de alto peso molecular (CK 14), así como vimentina, CD10 y el anticuerpo monoclonal RCC ^{46,48,49}. Genéticamente se caracteriza por la pérdida del brazo corto del cromosoma 3 (pérdida de heterocigosidad (LOH3p)) típica, pero no patognomónica, de este tumor. En este cromosoma se localiza el gen VHL (3p 25-26), gen supresor involucrado por pérdida o malfunción en la enfermedad del mismo nombre. En los casos aislados esta alteración aparece hasta en el 60% de los casos. Otros genes implicados son el 3p14.2 (gen FHIT) y el 3p12 ^{50, 51, 52, 53}, esencialmente por translocaciones genéticas ⁵⁴.

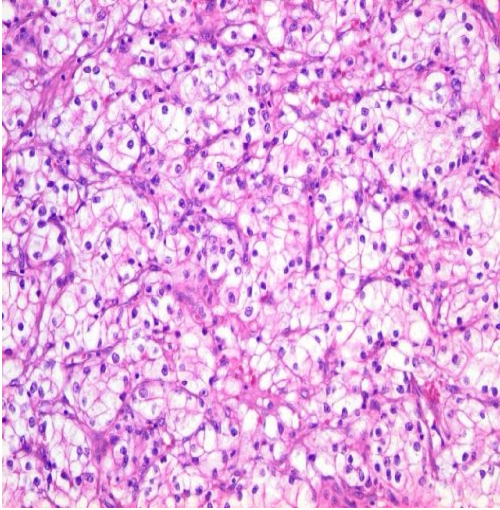


Fig. 2. CCR de células claras (H-E 20x)

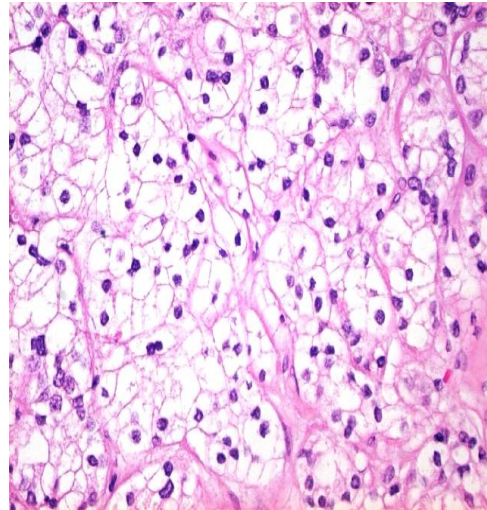


Fig. 3. CCR de células claras (H-E 40x)

3.2 CARCINOMA RENAL PAPILAR.

Corresponde por frecuencia al 10-15% de todos los CCR. Su clasificación en este caso viene dada por la morfología de la distribución celular y no por el tipo de células, de tal forma que se agrupan en torno a un tallo vascular (papilas) en al menos un 50-70% del tumor. En el resto es posible encontrar otras distribuciones, sólidas, tubulopapilares o incluso quísticas y fusocelulares hasta el 5%^{46, 52}. Según los tipos celulares, 2 patrones han sido descritos:

- Tipo 1. Formado por células basófilas, pequeñas y generalmente de bajo grado y poco agresivas⁵⁵.
- Tipo 2. Constituido por células más grandes eosinófilas con núcleos pseudoestratificados. Son tumores muy agresivos y de mal pronóstico en general^{55, 56}. Son genéticamente más heterogéneos y pueden surgir de los tumores tipo 1⁵⁷.

No es raro encontrar macrófagos espumosos, edema, cuerpos de Psammoma y cristales de colesterol. Estos tumores expresan citoqueratinas de bajo peso

molecular como la CAM 5.2; CK7 más frecuentemente en el tipo 1. Suelen expresar vimentina y CD10. El EMD se expresa hasta en el 60% de los casos, con más frecuencia en el tipo 1 y todos expresan AMACR-P5045 (racemasa α -metil-acilCoA)⁴⁶. Macroscópicamente son tumores sonrosados bien delimitados, de consistencia blanda que pueden tener áreas necróticas y/o hemorrágicas. Más frecuentemente multifocales que los de células claras y con frecuencia con pequeñas tumoraciones satélites que se consideran microadenomas papilares⁴⁶. Globalmente la tasa de supervivencia a 5 años es aproximadamente del 90% con un predominio en varones 5:1⁵⁴ y aunque suelen ser menos agresivos, cuando metastatizan su pronóstico es peor que el CCR de células claras⁵⁸.

Los cambios genéticos más habituales detectados se relacionan con el cromosoma 7, en el cual se encuentra el protooncogen c-MET. Este cromosoma se encuentra duplicado en el 75% de los casos esporádicos⁵⁴. Otros cambios frecuentes observados son la tetrasomía del cromosoma 7, la trisomía 17 o la pérdida del cromosoma Y⁵⁹. Estas alteraciones se han asociado con la activación de c-MET (7q34), un protooncogen que codifica el HGFR (receptor del factor de crecimiento del hepatocito), tanto en el tipo esporádico como en el familiar. En los casos con componente hereditario el dominio que codifica este receptor tirosin-kinasa se encuentra autoactivado por una mutación con sustitución de aminoácidos, lo que promueve la transformación celular⁶⁰, mientras que en los esporádicos solo un pequeño porcentaje tienen mutaciones en MET¹². También se ha observado pérdida de heterocigosidad (LOH) 3p similar a los acontecidos en CCR de células claras hasta en un 60% de los casos, siendo los más frecuentes las 3p25-26 (VHL) y las 3p14.2 (FHIT). Independientemente, existen cambios genéticos casi exclusivos del tipo 1 (alteraciones en 17q) o del tipo 2 (alteraciones de 9p)⁴⁶. En algunos casos esporádicos se han encontrado translocaciones cromosómicas que afectan al gen TFE3 en el cromosoma Xp11.2⁵⁴, se dan en niños o adultos jóvenes, sin preferencia por sexos y pueden asociarse también a carcinomas de células claras.

El gen TFE3 codifica un factor de transcripción de doble hélice relacionado con el protooncogen C-myc.

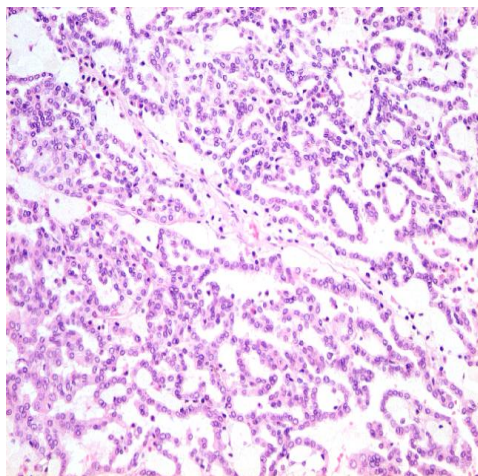


Fig. 4. CCR papilar tipo1 (H-E 20 X)

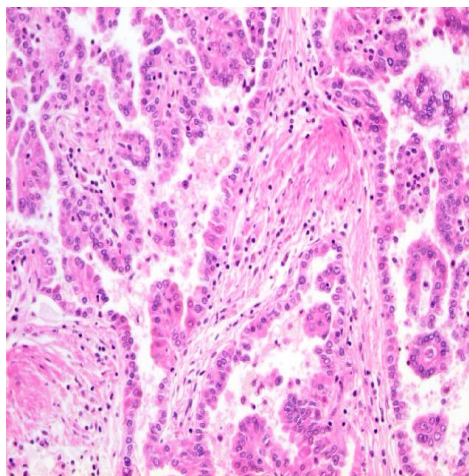


Fig.5. CCR papilar tipo 2 (H-E 20 X)

3.3 CARCINOMA RENAL DE CÉLULAS CROMÓFOBAS.

Este subtipo es el tercero en frecuencia con un 5-10% de los casos⁶¹. Formado por células grandes de aspecto claro, con abundante citoplasma y de formas poliédricas, contienen microvesículas y en ocasiones tienen aspecto más eosinófilo (variante eosinofílica) por una mayor cantidad de mitocondrias. Es característica la tinción de azul con hierro coloidal (Tinción de Hale). La arquitectura sólida es la más habitual y en secciones rutinarias, el citoplasma se condensa cerca de la membrana celular, formando un halo alrededor del núcleo^{43, 44, 47, 62}. En un 8% de los casos hay áreas sarcomatoides⁶³. Su origen se supone en la célula intercalar de la nefrona distal^{62, 64, 65}; se piensa que el oncocitoma se originaría de las células intercaladas tipo A del conducto colector, mientras que el carcinoma cromóforo lo haría de las células tipo B⁵⁴. Las células intercaladas tipo A tienen la función de secretar H^+ a la luz tubular en una acción de la anhidrasa carbónica, que hidrata el CO_2 , manteniendo así la concentración de H^+ en el túbulo. Las tipo B tienen una función opuesta, captando H^+ de la luz tubular y secretando HCO_3^- a ésta. Macroscópicamente son tumores de color pardo, ocasionalmente con una cicatriz

central, lo que les asemeja al oncocitoma. Suelen ser únicos aunque los familiares con mucha frecuencia dan lugar a tumores múltiples. Expresan citoqueratinas de alto y bajo peso molecular y suelen marcar EMA y C-KIT. El CD-10 suele ser negativo, pero cuando lo marca suele ser signo de agresividad ⁴⁶.

Genéticamente estas células suelen ser hipoploides y aunque inicialmente se pensó que no tendría delección del cromosoma 3p ⁶⁶, si se han confirmado delecciones 3p25-26 y 3p14.2 ⁵⁰. Típicamente estos tumores tienen pérdida de los cromosomas 1, 2, 6, 10, 13, 17 y 21 ⁶⁷. La LOH 17 pone de manifiesto la asociación de este tumor con el Síndrome Birt-Hogg-Dubé. En un 27% de los casos hay mutación del TP53 y se han encontrado pérdidas alrededor de PTEN ⁴⁶. En general son tumores con escasa capacidad metastásica y con un excelente pronóstico ^{68,69,70}.

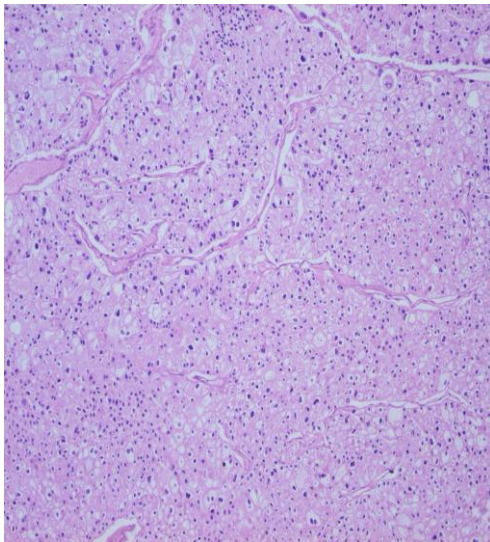


Fig. 6. CCR cromóforo (H-E 10X)

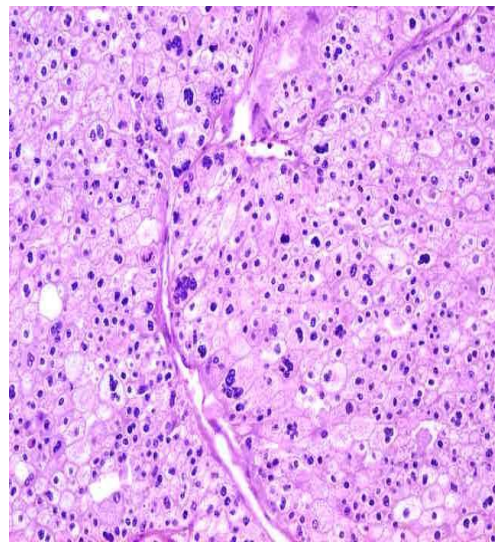


Fig.7. CCR cromóforo (H-E 20X)

3.4 CARCINOMA DE LOS CONDUCTOS COLECTORES DE BELLINI.

Es un raro tumor renal (<1%) cuyo diagnóstico es complejo por no existir unos criterios precisos. La OMS ha definido criterios mayores y menores para poder diagnosticarlo (Tabla 2). Se consideran criterios mayores el alto grado nuclear, el citoplasma eosinófilo, el patrón tubular acodado y la presencia de “células en remache”, con desmoplasia intensa y ausencia de carcinoma urotelial. La presencia de carcinoma “*in situ*” en conductos colectores próximos es un criterio menor^{61,71,72}. Puede existir un patrón sarcomatoide en un 30% de los casos⁷³. Suelen ser tumores de localización medular, únicos, de contornos mal definidos, blanquecinos y de aspecto infiltrativo.

No existen marcadores inmunohistoquímicos objetivos, pero casi todos expresan citoqueratinas de alto peso molecular y *ulex europaeus* por lo que se han incluido como criterios mayores para el diagnóstico⁴⁶. Todos expresan vimentina y ninguno CD10 ni AMARC. Citogenéticamente las alteraciones más frecuentes son las pérdidas en los cromosomas 1q, 6p, 13q, 14, 15, 21q y 22⁷⁴. Son tumores en general muy agresivos, con mal pronóstico en el momento del diagnóstico, con tendencia a aparecer en pacientes jóvenes, y en muchas ocasiones en estadios metastásicos al diagnóstico⁷⁵. Tanto por su origen en las células derivadas del conducto del Wolff como por sus características histológicas y clínicas son fácilmente confundibles con carcinomas uroteliales.

Tabla 2. Criterios diagnósticos del carcinoma de conductos colectores.

CRITERIOS MAYORES:
1. Localización en médula (tumores pequeños)
2. Histología típica con arquitectura irregular tubular y alto grado nuclear.
3. Estroma desmoplásico con infiltrado inflamatorio y abundantes polimorfonucleares.
4. Reactividad a queratinas de alto peso molecular.
5. Reactividad a Ulex Europaeus
6. Ausencia de carcinoma urotelial.
CRITERIOS MENORES:
1. Localización central (tumores grandes).
2. Arquitectura papilar con ejes fibrosos amplios y desmoplásicos.
3. Invasión renal y extrarrenal extensa con invasión linfática y venosa.
4. Atipia epitelial intratubular en ductos adyacentes al tumor.

3.5 CARCINOMA RENAL MEDULAR.

Excepcionales en frecuencia, se caracterizan por células con crecimiento reticular y adenoide-quístico, de citoplasma claro, eosinofílico, de núcleos grotescos. El estroma es edematoso, desmoplásico y con infiltración inflamatoria de tipo mixto⁴⁶. Macroscópicamente son tumores blanquecinos localizados en la médula renal, mal delimitables, de predominio derecho 3:1⁵⁷.

En general expresan citoqueratinas de bajo peso molecular y no las de alto ni EMA⁴⁶. Pocos estudios citogenéticos existen en la literatura por la rareza del mismo. Se ha informado de translocaciones t(3;8) (p21; q24)⁷⁶ y monosomía del cromosoma 11⁷⁷. El HER2/neu es negativo, contrariamente al carcinoma de conductos colectores, y la

expresión del VEGF y HIF son extensamente positivos. Son tumores muy agresivos, con mal pronóstico en el momento del diagnóstico, que se da en jóvenes (5-40 años), más frecuentemente en raza negra y con anemia de células falciformes (el gen de la β -globulina se localiza en 11p) ^{46, 78}.

3.6 CARCINOMA MUCINOSO TUBULAR Y FUSOCELULAR.

Recientemente incluido en la clasificación (2004) por la OMS por su comportamiento clínico diferenciado del resto. Está constituido por células de morfología cuboidal, de citoplasma pequeño, basófilos, que se distribuyen en túbulos alargados, mezclados con otras áreas sólidas de células fusiformes. Es habitual la presencia de mucina en el espacio extracelular y con frecuencia existen macrófagos espumosos. Macroscópicamente son tumores bien delimitados, de color amarillento, y de aspecto homogéneo ^{46, 79}. Inmunohistoquímicamente expresan CK7 en todos los casos así como vimentina y en menor grado citoqueratinas de alto peso molecular. El EMD habitualmente es positivo al igual que el AMACR (92% de los casos) y nunca expresan CD10, C-Kit ni *Ulex europaeus* ^{46, 79, 80}. Las alteraciones citogenéticas más frecuentes son monosomías en 1, 4, 6, 8, 9, 13, 14, 15 y 22 y se piensa que tenga su origen en la nefrona distal ⁸¹. Clínicamente existe un predominio femenino y en ocasiones se asocian a litiasis renales, habiéndose constatado en la mayoría de los casos un excelente pronóstico.

3.7 CARCINOMAS RENALES INCLASIFICABLES.

Tienen una frecuencia de entre 3 y 5% en las series quirúrgicas ⁴³. Algunos autores como Algaba distinguen tres apartados que podrían agruparlos. El primero incluiría carcinomas renales anaplásicos o sarcomatoides puros, en general de muy mal pronóstico; el segundo grupo estaría compuesto por tumores o carcinomas híbridos en el cual se mezclaría en un mismo tumor distintos tipos celulares, siendo los más frecuentes los derivados de la nefrona distal (Oncocitoma + carcinoma de células cromófobas). El tercer grupo englobaría tumores no reconocidos por la OMS. Un

ejemplo sería el carcinoma de bajo grado de ductos colectores, antes denominado carcinoma tubuloquístico de bajo grado ^{46, 82}.

4. ASPECTOS CLÍNICOS DEL CCR.

4.1. SÍNTOMAS.

Los síntomas causados por el CCR se deben en general al crecimiento del tumor más allá de la cápsula renal, a la infiltración de la vía urinaria, a la clínica ocasionada por las metástasis y su localización o la aparición de sintomatología paraneoplásica. La triada clásica de Virchow, hematuria macroscópica, dolor en flanco y masa palpable abdominal aparece en sólo 5-15% de los pacientes al diagnóstico ⁸³, mientras que de forma aislada, la hematuria aparecen en el 50-60% de los pacientes, la masa palpable en el 25% y el dolor en el 40% aproximadamente ⁸⁴. Las manifestaciones paraneoplásicas tales como la hipercalcemia, caquexia, fiebre, sudoración nocturna, disfunción hepática o anemia se presentan en el 20%, más frecuentemente en tumores en estadio avanzado ^{85, 86}.

4.2. DIAGNÓSTICO.

El diagnóstico del CCR se realiza en base a la sintomatología, al diagnóstico incidental por pruebas de imagen o laboratorio y en pacientes muy seleccionados como consecuencia de *screening*.

4.2.1. *Screening* en el CCR.

Podría tener su lugar por varios motivos. Por ser una enfermedad quirúrgica, con lo que un diagnóstico precoz podría aumentar la supervivencia, si bien la baja incidencia de esta patología (9 casos/100000 habitantes) es uno de los argumentos en contra

para la realización de cribado en pacientes asintomáticos⁸⁷, Aunque se ha utilizado la tira de inmersión urinaria para la detección de la hematuria, usada conjuntamente con la ecografía, la tasa de detección sigue siendo baja y no asumible la relación coste-beneficio^{88, 89, 90} a pesar de que la incidencia de CCR en pacientes de estos estudios sea mayor que en la población general (77-300 casos/100000 habitantes). Por ello, debería realizarse sólo en pacientes seleccionados:

- Pacientes con insuficiencia renal crónica terminal en diálisis de más de 3 años, con expectativa de vida prolongada y sin patología concomitante importante. Un 80% de los pacientes con insuficiencia renal crónica terminal evolucionará con el tiempo hacia una enfermedad quística renal y de éstos el 2% desarrollarán un carcinoma renal. Dado que el riesgo relativo en estos pacientes es hasta 100 veces mayor que en la población general, parece que este grupo de riesgo si es subsidiario de diagnóstico precoz.
- Pacientes con diagnóstico de síndrome de VHL; con pruebas de imagen periódicas a partir de los 20 años de edad. Debe considerarse la posibilidad de este síndrome en personas con antecedentes visuales o neurológicos, con antecedentes familiares de ceguera, tumores del sistema nerviosos central o cáncer renal y coexistencia de quistes pancreáticos, tumores epididimarios o tumores del oído interno.
- Pacientes con enfermedad de VHL:
 - Análisis Genético: Si es positivo seguir recomendaciones del punto previo y menos riguroso si es negativo.
- Personas con parientes con otras formas de CCR familiar.
- Pacientes con esclerosis tuberosa.

4.2.2. Diagnóstico por imagen.

La ecografía es la prueba de imagen más habitualmente empleada para el diagnóstico del carcinoma renal, bien por sintomatología que haga sospechar la existencia del mismo o como diagnóstico incidental por estudio de otras patologías.

La estadificación radiológica debe hacerse mediante Tomografía Computarizada y radiografía simple de tórax. La tomografía computarizada con contraste intravenoso es obligado ante el hallazgo de masa ecográfica sólida puesto que aporta información relativa a la función renal, a la morfología renal y de la masa; aporta información en cuanto a la extensión local y a distancia de la misma, la existencia de adenopatías, afectación vascular y suprarrenal. La resonancia magnética se reservaría únicamente para pacientes con alergia a contrastes yodados, o ante sospecha de afectación vascular con presencia de trombo tumoral de vena renal, cava o aurícula dcha. En caso de sintomatología neurológica está indicada la TAC cerebral y únicamente en caso de dolor óseo o elevación de fosfatasa alcalina en la bioquímica es preciso la realización de pruebas de imagen para descartar afectación ósea: gammagrafía ósea y/o TAC ⁹¹.

4.3. TRATAMIENTO QUIRÚRGICO.

El tratamiento quirúrgico es el único que se ha mostrado capaz de curar este tumor. La nefrectomía radical sigue siendo el patrón sobre el que se comparan nuevas técnicas quirúrgicas, con resultados en muchas ocasiones y en pacientes seleccionados similares a ella ⁹². En caso de enfermedad localizada la nefrectomía radical debe incluir el riñón y la grasa perirrenal de forma rutinaria. La suprarrenalectomía no debería hacerse de forma habitual, estando únicamente reservada para tumores con alto riesgo de invasión directa, de polo superior renal

o de gran tamaño (>7 cm), si las pruebas de imagen no muestran afectación de la misma ^{91, 93}. Tampoco existen evidencias del aumento de supervivencia tras linfadenectomía ampliada de forma rutinaria, por lo que se recomienda únicamente una linfadenectomía hiliar con intención de estadificación ⁹¹.

En los últimos años, la evolución en la cirugía ha sido hacia la conservación de tejido sano del riñón tumoral, y en otro sentido a reducir la agresión al paciente mediante cirugía menos invasiva por medio de técnicas laparoscópicas, robóticas y percutáneas. Es posible diferenciar indicaciones absolutas, relativas y electivas para recibir cirugía conservadora.

- Absolutas: aquellas en las que la realización de una nefrectomía radical dejaría al paciente anéfrico anatómica o funcionalmente, con necesidad de tratamiento sustitutivo mediante diálisis o trasplante renal.
- Relativas: en las cuales el riñón contralateral tienen una enfermedad preexistente y su función en el futuro podría deteriorarse. En estos pacientes la relación riesgo-beneficio se debe considerar individualmente.
- Electivas: aquellos tumores de pequeño tamaño con riñón contralateral normal. La nefrectomía parcial está ampliamente aceptada como tratamiento en tumores renales menores de 4 cm (T_{1a}), con resultados en múltiples estudios con supervivencias superponibles a los obtenidos con nefrectomía radical ^{94, 95}. En tumores mayores de 4 cm, en aquellos de localización mesorrenal, que afecta al seno o al sistema calicial, su tratamiento de elección sería la nefrectomía radical ⁹⁶.

En determinadas situaciones de enfermedad diseminada, la nefrectomía puede estar indicada con intención paliativa y ocasionalmente con intención curativa. La

nefrectomía es obligada en pacientes con buen estado general sometidos a tratamiento adyuvante con interferón-alfa, ya que los resultados son mejores que los obtenidos con inmunoterapia sola. En enfermedad avanzada, la nefrectomía también está indicada en estrategias terapéuticas multimodales: asociada a inmunoterapia, inhibidores de angiogénesis y asociada a cirugía de las metástasis. En general, estas estrategias terapéuticas se contemplan en pacientes con buen *performance status*^{91, 97, 98, 99}.

4.4 TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS.

Se han descrito posibles tratamientos que de forma percutánea o mínimamente invasiva podrían usarse en el CCR pero ninguno ha demostrado su eficacia en estudios prospectivos y controlados. La radiofrecuencia, la crioablación, la ablación con microondas, la ablación con laser o los ultrasonidos de alta intensidad son técnicas descritas^{100, 101, 102}. Pueden estar indicados en pequeñas masas corticales, en pacientes ancianos o pacientes con predisposición genética a la aparición de tumores renales múltiples, así como en tumores en riñón único o en tumores bilaterales⁹¹.

4.5 TRATAMIENTOS SISTÉMICOS.

El tratamiento médico en el CCR en estadios avanzados es claramente insatisfactorio. La tasa de respuesta a quimioterapia es menor del 10%^{103, 104}. Ello podría ser debido a múltiples factores como la baja velocidad de crecimiento (tasa de duplicación) de este tumor, así como a la presencia de genes como el MDR-1 (*multidrug resistance gen*) que neutraliza los agentes citotóxicos¹⁰⁵.

Con inmunoterapia, aunque bajas, existen tasas de respuesta parciales y completas. Dos son los agentes utilizados actualmente, el interferón α (IFN α) y la

interleukina-2 (IL-2). Con IFN- α se han obtenido tasas de respuesta del 6-26% con repuestas completas entre el 2-7%^{106, 107, 108} y un beneficio de supervivencia de 3-5 meses. Se recomienda su uso en pacientes con CCR metastásico con buen estado general con progresión después de 1 año del diagnóstico y preferiblemente metástasis pulmonares solitarias⁹¹. La tasa de respuesta con IL-2 oscila entre el 7-27%, tiene mayores efectos adversos que el IFN- α y es más eficaz sobre los CCR de células claras. La combinación de ambas no se ha demostrado que sea beneficiosa en cuanto a mejorar supervivencia con respecto a la monoterapia⁹¹.

Recientemente nuevos conocimientos en la biología molecular del CCR han logrado el desarrollo de nuevos fármacos con acción fundamentalmente antiangiogénica y expectativas de supervivencia que mejoran enormemente los tratamientos actuales^{109, 110}. Sorafenib (Bay 43-9006, Nexavar[®]) se aprueba en 2006 para el tratamiento del CCR. Se trata de un inhibidor multikinasa biaryl-urea, oral con actividad frente a la kinasa Serina/Treonina Raf-1, B-Raf, VEGFR 1-3, PDGFR- β , FLT-3 y C-KIT (CD117)¹¹¹. Su acción antiangiogénica se produce fundamentalmente por la acción sobre VEGFR-2.

Sunitinib (SU11248, Sutent[®]) es otro inhibidor oral de tipo oxindol tirosin/kinasa con acción sobre VEGFR-2 (KDR/FLK-1), PDGFR- β , KIT (CD117) y FLT-3. En ensayos fase II ha demostrado respuestas parciales en aproximadamente 34-40% de los pacientes. En estudios fase III ha demostrado claro beneficio frente a IFN- α ⁹¹.

Tensirolimus (CCI-779, Tonsel[®]), aprobado en mayo 2007, actúa por como inhibidor específico de la vía m-TOR (*mammalian Target of Rapamycin*) bloqueando la señal intracelular de esta vía, que incluye la transcripción de HIF. Ha demostrado beneficios en cuanto a supervivencia comparada con INF- α , siendo precisa su administración intravenosa^{111, 112}. Otros muchos fármacos se están investigando en la actualidad¹¹³; en la tabla 3 se muestran algunos de ellos.

Tabla 3. Fármacos ensayados en el tratamiento del CCR.

FARMACO	MODO DE ACCION	DIANA	REACCIONES ADVERSAS	ENSAYOS
Sorafenib (nexavar®)	Inhibidor oral multikinasa	VEGFR, PDGFR, Raf kinasa	Síndrome mano-pie, fatiga, diarrea, hipertensión	Fase III
Sunitinib (sutent®)	Inhibidor de tirosin-kinasa selectivo oral	VEGFR, PDGFR, FLT3, KIT	Fatiga, astenia, nauseas, diarrea, estomatitis, linfopenia	Fase III
Tensirolimus (Torisel®)	Inhibidor selectivo mTOR	mTOR	Hiper glucemia, hemorragia intracerebral, anemia, astenia, nauseas, exantemas	Fase III
Bevacizumab	Anticuerpo monoclonal recombinante humanizado	VEGF	Hipertensión, proteinuria, trombosis	Fase III
Volociximab	Anticuerpo monoclonal quimérico	$\alpha 5\beta 1$ integrina	Nauseas, vómitos, astenia	Fase II
Axitinib	Inhibidor de tirosin-kinasa oral	VEGFRs, PDGFR- β	Hipertensión, fatiga, nauseas, diarrea	Fase II
PTK787/ZK222584 Vatalanib	Inhibidor oral selectivo	VEGFR1, VEGFR2, VEGFR3, KIT	Fatiga, nauseas, vómitos	Fase II
AMG102	Anticuerpo monoclonal completamente humanizado IgG2	HGF SF	Nauseas, diarrea	Fase II
ABT510	Análogo de la trombospondina 1 oral	Análogo TSP-1	Reacciones en el punto de inyección, fatiga	Fase II
AMG386	Proteína de fusión del Fc-péptido	Angiopoyetinas	No informadas	Fase II
Everolimus	Inhibidor oral mTOR	mTOR	Mucositis, rash, pneumonitis, hipofosfatemia, anemia, trombocitopenia	Fase II
Pazopanib	Inhibidor oral multikinasa	VEGFR-1,-2,-3, PDGFR- α , - β , c-KIT	Hipertensión, fatiga, nauseas, diarrea	
Perifosina	Alkil-fosfolípido heterocíclico sintético	AKT, MAPK	Fatiga, nauseas, vómitos, diarrea	Fase II

5. FACTORES PRONÓSTICOS EN EL CCR.

Están establecidos una serie de factores pronósticos, dependientes del paciente y del tumor, que pueden definir la posible evolución de un carcinoma renal.

5.1 FACTORES DEPENDIENTES DEL PACIENTE.

5.1.1. Estatus clínico.

Múltiples estudios ^{114, 115, 116, 117, 118} señalan el estado general del paciente como factor clave para predecir supervivencia y posible respuesta a tratamientos quimioterápicos. Dos son las escalas habitualmente utilizadas: la Escala de *Karnofsky* (KS) y la Escala ECOG (*Eastern Cooperative Oncology Group*). En las tablas 4 y 5 se describe cada una de ellas.

La escala ECOG-PS (*Eastern Cooperative Oncology Group-Performace Status*) es un sistema de puntuación de 0 a 4 basada en el estatus ambulatorio del paciente y denota el impacto de la enfermedad en la salud del paciente. La de *Karnofsky* es similar en cuanto a valoración del estado de salud global, pero la puntuación es de 0-100, siendo ésta inversa a la previa, es decir el mejor estado posible es 0 en ECOG-PS y 100 en la KS. Varios estudios muestran la escala ECOG-PS como un factor pronóstico independiente de supervivencia en pacientes con CCR metastásico ^{114, 115, 118, 119, 120}, incluso en su capacidad para predecir la presencia de metástasis óseas ¹²¹.

Tabla 4. Escala de Karnofsky (KS)

100 %	Normalidad. No evidencia de enfermedad
90 %	Actividad normal. Signos y síntomas menores
80 %	Actividad normal con esfuerzo. Algunos signos y síntomas
70 %	Capaz de cuidarse a sí mismo. Incapaz de desarrollar una actividad o trabajo normal
60 %	Capaz de cuidarse a si mismo. Requiere asistencia ocasional
50 %	Requiere ayuda de otros y frecuentes cuidados médicos
40 %	Incapacitado. Requiere cuidados especiales
30 %	Severamente incapacitado. Indicación de hospitalización
20 %	Muy grave. Hospitalización. Precisa tratamiento activo de soporte
10 %	Moribundo
0 %	Fallecido

Tabla 5. Escala ECOG.

- ECOG 0. La persona no presenta ningún síntoma, y puede mantener normalmente sus rutinas cotidianas.
- ECOG 1. La persona presenta algunos síntomas que no le impiden realizar su trabajo ni sus actividades diarias. Sólo permanece en cama durante las horas de sueño nocturno.
- ECOG 2. La persona no puede desempeñarse en su trabajo. Los síntomas que tiene lo obligan a permanecer en la cama varias horas al día, además de las de la noche, pero que no superan el 50% del día. Satisface la mayoría de sus necesidades, pero precisa de ayuda para alguna actividad que antes realizaba.
- ECOG 3. La persona necesita permanecer en cama más de la mitad del día por la presencia de síntomas. Requiere ser ayudado para la mayoría de las actividades de la vida diaria.
- ECOG 4. La persona permanece en cama el 100% del día y necesita ayuda para todas las actividades cotidianas.
- ECOG 5. La persona está a punto de morir.

La presencia de síntomas en el momento del diagnóstico se comporta como factor negativo para predecir supervivencia. La pérdida de peso, la caquexia y la hematuria han sido descritos como factores de mal pronóstico. El 20% de los pacientes diagnosticados presentará síntomas paraneoplásicos al diagnóstico y el 10 al 40% de todos los pacientes los desarrollarán a lo largo de su evolución ¹²². Estos síntomas se relacionan con la respuesta tumoral elaborada por el tumor (proteínas asociadas al tumor) o por la respuesta inmunológica a estas células. En otros casos los síntomas se derivan del efecto de la anemia, la disfunción hepática, la hipoalbuminemia o la hipercalcemia paraneoplásicas. El hecho de que estos cuadros paraneoplásicos se den tanto en tumores localizados como en los metastásicos da a entender que están tanto en relación con la biología del tumor como con la extensión de éste ¹²³.

La hipertensión arterial se ha descrito en un 40% de los pacientes con CCR, aunque no en todos los casos está relacionado con síndromes paraneoplásicos. Las posibles causas se deberían a elevación de renina plasmática, policitemia, presencia de fístulas arteriovenosas, etc. ¹²⁴. La disfunción hepática no metastásica (Síndrome de *Stauffer*) puede aparecer en el 15 a 30% de los CCR. Se caracteriza por aumento de bilirrubina indirecta y de la fosfatasa alcalina, hipoprotrombinemia y elevación de la α_2 -globulina. Se puede asociar también hipoalbuminemia, hipergammaglobulinemia y aumento de la glutamil transpeptidasa (GTP) ¹²⁵. La fiebre como síntoma paraneoplásico se describe en el 50% de los pacientes y se relaciona con secreción de sustancias pirógenas por el tumor, reacciones inmunológicas frente a proteínas tumorales y necrosis tumoral. Otros síndromes descritos son la secreción ectópica de ACTH desarrollando un cuadro similar al Síndrome de Cushing, la hipercalcemia tumoral en relación con aumento de la actividad de los osteoclastos, secreción de vitamina *D-like* o *PTH-like* y prostanglandinas. En general se asocian a muy mal pronóstico con evolución rápida y en muchos casos resistente al tratamiento corticoideo y con bifosfonatos ¹²⁶. Están descritos también cuadros trombóticos por hiperglobulinas en relación con aumento de secreción de eritropoyetina. Más raramente pueden existir cuadros

clínicos relacionados con síndrome nefrótico, neuromiopatía carcinomatosa, secreción de gonadotropinas, prolactina, glucagón, insulina, etc ^{127, 128, 129}.

5.1.2. Parámetros hematológicos y bioquímicos

Muchos de estos hallazgos son manifestaciones de los cuadros anteriormente descritos. La trombocitosis (recuento plaquetario $>400.000/\text{mm}^3$) se ha mostrado como factor independiente de mal pronóstico en pacientes nefrectomizados con CCR metastásico ¹³⁰. Se ha asociado a tumores con estadio T mayor y afectación ganglionar ¹³¹, también se ha correlacionado con peores estadios TNM, ECOG-PS y supervivencia ¹³². La neutrofilia en algunos estudios también ha demostrado ser un factor pronóstico independiente de mal pronóstico en pacientes con cáncer renal ^{133, 134}.

Otras manifestaciones bioquímicas que ponen de manifiesto un peor pronóstico son la hipercalcemia ¹³⁵, en concordancia con lo descrito en el punto anterior, y la hipoalbuminemia ^{136, 137}.

5.2 FACTORES TUMOR DEPENDIENTES.

5.2.1. Subtipo Tumoral.

El pronóstico del paciente es distinto según el subtipo histológico que éste presente. No obstante, en algunos casos, estas diferencias van a estar más en relación con el grado nuclear y el estadio que con el tipo tumoral en sí. Sin embargo, la clasificación de la OMS sí pone de manifiesto diferencias en el comportamiento de determinados tumores sobre otros. Así, tumores como el carcinoma renal quístico multilocular, el carcinoma papilar renal tipo 1 ó el

carcinoma mucinoso tubular y fusocelular van a comportar un mejor pronóstico, al contrario, el carcinoma de ductos colectores de Bellini ó el carcinoma medular, independientemente del grado y estadio tienen peor pronóstico.

En los tumores más habituales las diferencias pronósticas en relación al subtipo sí se evidencian en los estudios estadísticos univariable, pero en el multivariable esto no es así en muchos casos^{138, 139}. En general los pacientes con CCR de células claras van a tener peor pronóstico que los papilares y los cromófobos. La tasa de supervivencia tumor-específica a 5 años varía entre el 55-75%, 65-85% y 85-100% en los de células claras, papilares y cromófobos respectivamente^{139, 140, 141, 142}. Los carcinomas cromófobos tienen mejor pronóstico, si bien el 86% de ellos son de bajo grado y están localizados en el riñón¹⁴³. Además otros factores pueden influir como variables pronósticas. Así los pacientes con CCR cromófobos, suelen ser pacientes más jóvenes, lo que conllevaría una mayor supervivencia¹³³. En los CCR papilares, los tipo 2 tienen una menor supervivencia en todas las series en relación a los tipo 1, si bien son carcinomas de más alto grado y estadio aunque afecta a pacientes más jóvenes que los tipo 1⁵⁵.

El subtipo tumoral también influye en el pronóstico por la diferente respuesta a las opciones terapéuticas actualmente disponibles. La respuesta a IL-2 por parte de los carcinomas cromófobos y papilares es significativamente menor que los CCR de células claras¹⁴⁴.

5.2.2. Grado Nuclear.

Todos los estudios realizados para valorar el pronóstico basados en el grado de diferenciación tumoral han mostrado diferentes valores pronósticos según estos. Se han propuesto varios sistemas de graduación basados en el núcleo celular. El más utilizado en la actualidad es el de Fuhrman¹⁴⁵. Se basa en 4 grados nucleares

según el tamaño nuclear, la forma nuclear y el contenido de este. Existe una tendencia cada vez mayor a agrupar los grados 1 y 2 en tumores de bajo grado y los 3 y 4 en tumores de alto grado. El grado nuclear se ha visto correlacionado con el estadio tumoral, el tamaño del tumor, la presencia de metástasis, la afectación ganglionar, vascular y de la grasa perirrenal ¹⁴⁶. La supervivencia cáncer-específica a 5 años es del 76-94%, 71-86% 46-59% y 15-35% para los grado 1, 2, 3 y 4 respectivamente ^{139, 147}. El grado nuclear es un factor independiente del estadio tumoral; así en tumores en estadio T₁ (menores de 7cm.), la supervivencia para los grados 1, 2, 3 y 4 fue respectivamente del 91%, 83%, 60% y 0% ¹⁴⁸.

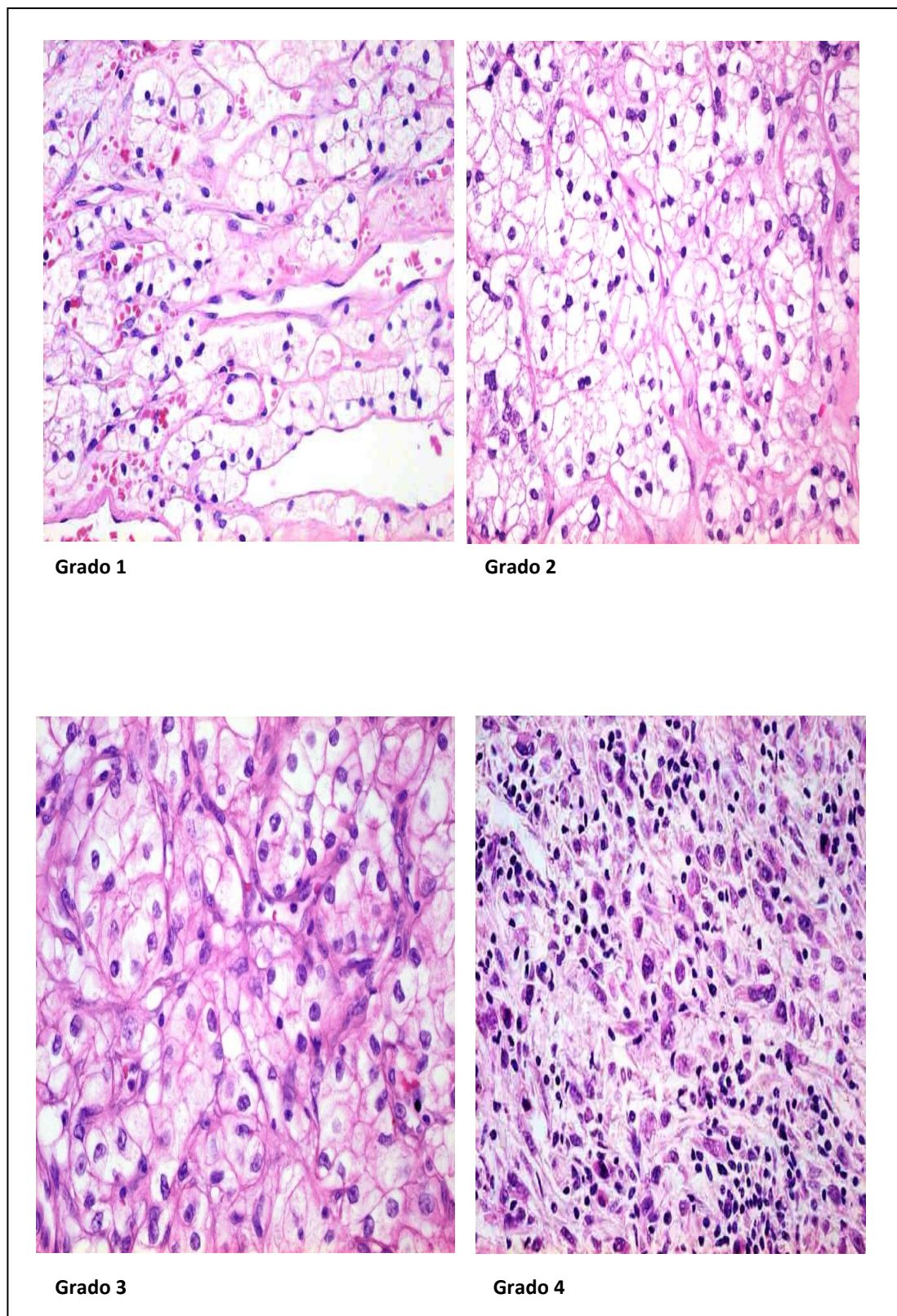


Fig. 8. Grados nucleares según la clasificación de Fuhrman (H-E 40X)

5.2.3. Estadificación Tumoral. Clasificación TNM (UICC. 2002).

El sistema de estadificación TNM (Tumor, nódulos-ganglios linfáticos, metástasis) se basa en el tamaño tumoral, la extensión del cáncer más allá de la cápsula renal, la afectación de la vena renal/cava, la afectación suprarrenal y la existencia de metástasis ganglionares y a distancia (Tabla 6). En base a esta clasificación los carcinomas se agrupan en estadios (I-IV) con valor pronóstico independiente del resto de factores (Tabla 7).

Tabla 6. Estadiaje postquirúrgico (TNM. UICC 2002).

TUMOR PRIMARIO (pT)

- pTX : El tumor primario no puede evaluarse
- pT0: Ninguna evidencia de tumor primario
- pT1: Tumor menor o igual de 7 cm de tamaño máximo, limitado al riñón
 - pT1a: Tumor menor o igual a 4 cm, limitado al riñón
 - pT1b: Tumor mayor de 4 cm pero menor o igual de 7 cm, limitado al riñón
- pT2 : Tumor mayor 7 cm , limitado al riñón
- pT3: Tumor que se extiende a la vena renal o invade glándula suprarrenal o tejidos perirrenales, pero no sobrepasa la fascia de Gerota
 - pT3a: El tumor invade directamente la glándula suprarrenal o tejidos perirrenales y/o grasa hiliar, pero no sobrepasa la fascia de Gerota
 - pT3b: El tumor se extiende groseramente a la vena renal o a sus ramas (con capa muscular), o a la vena cava por debajo del diafragma
 - pT3c: El tumor se extiende groseramente a la vena cava por encima del diafragma o invade la pared de la vena cava
- pT4: El tumor invade más allá de la fascia de Gerota

METÁSTASIS EN GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES (pN)

- pNX: No puede evaluarse
- pN0: No evidencia de metástasis en ganglios linfáticos regionales
- pN1: Metástasis en un solo ganglio regional
- pN2: Metástasis en más de 1 ganglio

METÁSTASIS A DISTANCIA (pM)

- pMx: No puede evaluarse
- pM1: Metástasis a distancia

Tabla 7. Estadíos en el CCR.

- Estadío I - T1, N0, M0
- Estadío II - T2, N0, M0
- Estadío III - T1-2, N1, M0 o T3a-c, N0-1, M0
- Estadío IV - T4, o cualquier T, N2, M0; o cualquier T, cualquier N, M1

La supervivencia cáncer-específica a 5 años es de 91-100% para estadio I, 74-96% para estadio II, 55-70% para el III y 11-32% para el estadio IV^{140, 148, 149}. Aunque actualmente sigue vigente esta clasificación, numerosos datos publicados modifican algunos aspectos de la misma, de forma que aún dentro del mismo estadio TNM, el pronóstico es distinto según las lesiones existentes.

El tamaño tumoral es una variable cada vez más aceptada de forma independiente como valor pronóstico. La subclasificación en T_{1a} y T_{1b} modifica escasamente el pronóstico del tumor, no así en los estadios T₂ cuyo pronóstico varía según el tamaño tumoral, lo que para algunos obligaría en el futuro a subestadiar los T₂ en T_{2a} y T_{2b}^{150, 151}. En los T_{3a} el pronóstico cambia según se afecte la grasa perirrenal o la grasa del seno. La invasión de ésta, es más frecuente y conlleva un peor pronóstico posiblemente por la abundancia de vasos venosos. Diversos estudios muestran un mayor riesgo de metástasis ganglionares, mayor grado y mayor incidencia de diferenciación sarcomatoide^{152, 153, 154}. Hay autores que abogan por el cambio de estadificación cuando existe afectación de la glándula suprarrenal, puesto que el pronóstico es significativamente peor que cuando lo está la grasa perirrenal, siendo ambos T_{3a}^{155, 156}. La supervivencia a 5 años cuando la afectación es de la grasa perirrenal es del 35% y de 0% si afecta a la glándula adrenal por contigüidad, similar a los T₄, siendo el análisis multivariable demostrativo como factor pronóstico independiente¹⁵⁷. En estadios T_{3b} y T_{3c} el pronóstico vendrá dado

por el estadio y el grado del tumor y en menor grado por la afectación venosa^{158,159}. La mayoría de los estudios no encuentran diferencias en la supervivencia en los CCR con trombo en la vena cava inferior o en la afectación de vena renal vs vena cava inferior, pero sí cuando invade la pared de la cava^{160,161,162,163,164}.

La afectación ganglionar (N) de forma global es del 20% con una supervivencia a 5 años del 11-35%^{165, 166}. El riesgo de afectación linfática va a ser dependiente del tamaño y estadio del tumor primario, la afectación vascular, la presencia de metástasis y la extensión de la linfadenectomía realizada. El único estudio prospectivo randomizado existente (EORTC 30881) no encontró diferencias significativas en progresión entre el grupo tratado con y sin linfadenectomía¹⁶⁷.

En el paciente metastásico (M) la media de supervivencia es de 6-10 meses, con una supervivencia a 2 años del 10-20%, siendo las metástasis más frecuentes las pulmonares y las óseas^{168, 169}. Las metástasis óseas se comportan peor que las pulmonares desde el punto de vista pronóstico al igual que las múltiples en relación con las únicas, así como las que afectan a varios órganos. En determinadas situaciones el pronóstico mejora claramente con la exéresis de las metástasis, y está aceptado su beneficio. Los mejores resultados se obtienen en metástasis pulmonares, metacrónicas con un largo intervalo libre de enfermedad y ampliamente resecaadas, obteniéndose tasas de supervivencia a 5 años entre el 29 y el 35%^{170, 171, 172, 173}. En contraposición, cuando la metástasis es sincrónica la media de supervivencia es de 4 meses con sólo un 10% de supervivencia al año, independientemente de la localización de la metástasis¹⁷⁴.

5.2.4. Necrosis Tumoral.

La necrosis histológica se define como cualquier grado de necrosis microscópica tumoral excluidos los cambios degenerativos tales como hialinización, hemorragia o fibrosis. Múltiples estudios lo reconocen como marcador independiente de mal pronóstico o de enfermedad avanzada^{175, 176}, así como con un mayor riesgo de muerte por enfermedad. En algunos estudios se ha visto como factor pronóstico independiente en carcinomas de células claras pero no en los papilares ni en los cromófobos¹⁴¹.

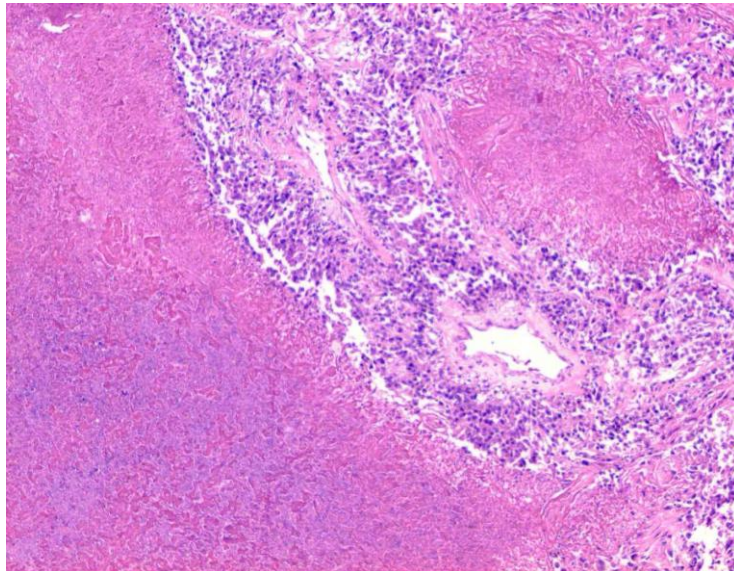


Fig. 9. Necrosis coagulativa (H-E 4X)

5.2.5. Invasión del Sistema Colector.

El sistema excretor renal está afectado en el 14% de los casos^{177, 178}. Se asocia más a CCR de células claras del alto grado, tamaño y estadio. Algunos estudios vinculan el compromiso del sistema colector a peor pronóstico en los estadios T₁ y T₂, no así en los T₃ o T₄¹⁷⁸.

5.2.6. Patrón Sarcomatoide.

Descrita en 1968 como entidad histológica independiente, en la actualidad no se considera como tal, pudiéndose encontrar este patrón en cualquiera de los subtipos de CCR. Se asocia en general a peor pronóstico con supervivencia a 5 años menor del 22%^{73, 179}.

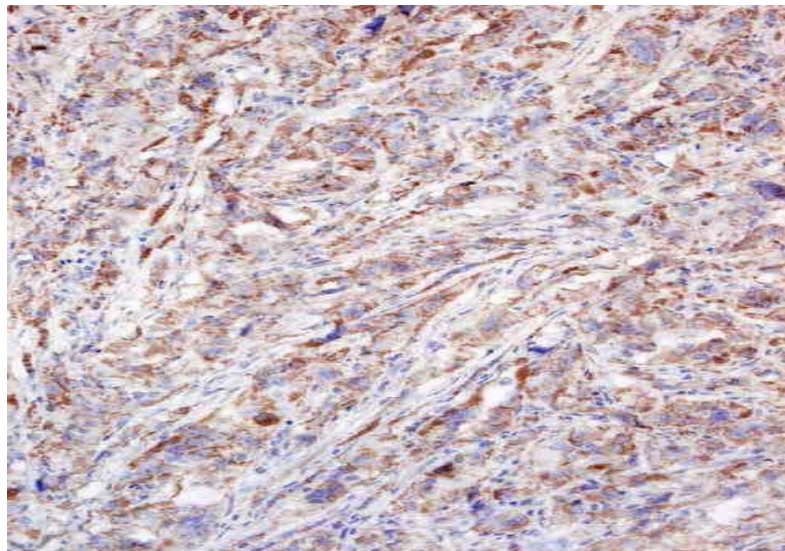


Fig. 10. CCR con patrón sarcomatoide. (Tinción para survivina 20X)

5.2.7. Invasión Microvascular.

Objetivado cuando las células tumorales invaden la pared de pequeños vasos, lo que las hace accesible al torrente sanguíneo y por ende facilitaría la diseminación a distancia. Tiene una incidencia del 12-28%^{180, 181, 182}. Para Van Poppel la enfermedad progresó en el 39.2% de los pacientes con invasión microvascular

contra el 6.2% de los que no la tenían, objetivándose en el análisis multivariable como el más importante factor pronóstico de supervivencia libre de enfermedad¹⁸⁰. Otros estudios corroboran estos datos, asociándolos con tumores de mayor estadio T, afectación ganglionar y a distancia, de mayor grado e incluso con mayor número de márgenes positivos quirúrgicos¹⁸².

5.2.8. Respuesta Inflamatoria.

La importancia pronostica de la infiltración por células mononucleares en el tumor renal es controvertido. Webster y col.¹⁸³ informan de la doble probabilidad de morir por CCR en pacientes que presentaban infiltración monocitaria tumoral comparados con los que no la tenían, incluso tras ajustar el resto de variables. Kolbeck¹⁸⁴ muestra la probable relación existente entre la infiltración mononuclear tumoral, concretamente de células T con la recurrencia tumoral, el alto grado y estadio patológico.

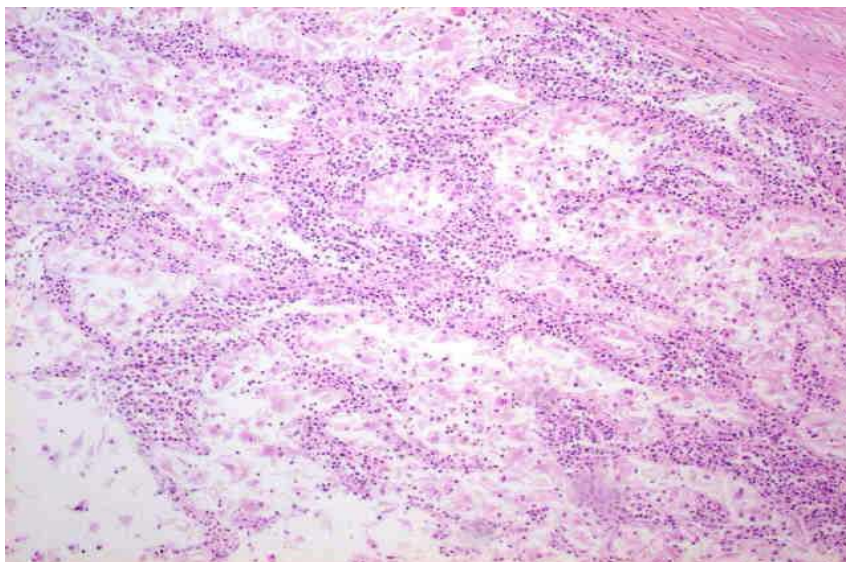


Fig. 11. Infiltrado mononuclear intenso en CCR de células claras (H-E 10X)

5.2.9. Biomarcadores Moleculares.

Se define biomarcador como una característica evaluable y medible de forma objetiva como indicador de un proceso biológico normal o patológico o una respuesta farmacológica a una intervención terapéutica. Se han clasificado los marcadores según la función que desempeñen, así, existen marcadores de riesgo, marcadores de detección precoz y marcadores de selección y pronóstico. Independientemente de su función, van a categorizarse basándose en la fuente del marcador (tejido, suero, orina), el significado clinicopatológico o estructura bioquímica que marque (tipo histológico, progresión, supervivencia, proliferación, regulación del ciclo celular, vía de la hipoxia ...) y su valor diagnóstico vs pronóstico¹⁸⁵.

Marcadores estudiados en el CCR ^{185, 186, 187}:

- De apoptosis:
 - Bax
 - BCL2
 - BIRC 5 (Survivina)
 - CLU (Clusterina)
 - CTSD (Catepsina D)
 - DIABLO (Direct IAP binding protein with low pI)
 - IGF 1 R (Receptor del factor de crecimiento de insulina)
 - VEGF-A(Factor de crecimiento del endotelio vascular)
- De degeneración de la matriz extracelular:
 - MMP2 (Metaloproteasa de matriz-2)
 - MMP7(Metaloproteasa de matriz-7)
 - MMP9(Metaloproteasa de matriz-9)
 - Laminina
 - Colágeno IV
 - Fibronectina
 - PLAU (uPA)(Activador del plasminógeno de tipo uroquinasa)
 - PLAU R(Receptor del Activador del plasminógeno de tipo uroquinasa)

- SERPINA I (PA I) (Serine proteinase inhibitor)
- De regulación del ciclo celular:
 - P21
 - CAVI (Caveolina-I)
 - CDKN1B (p27, Kip I)
 - EGFR (Receptor del factor de crecimiento epidérmico)
 - GMNN (Genminina)
 - MCM 2 (proteína *MiniChromosomeMaintenance*)
 - MK 167 (Ki-67)
 - NME 1 (nm 23)
 - PCNA (Antígeno nuclear de proliferación celular)
 - RB 1 (PRb) (Proteína del retinoblastoma)
 - PRDX2 (peroxiredoxina2)
 - SDT 1 (Espermina)
 - SKP 2
 - TIMP 1 (Inhibidor de tejido de metaloproteasa de matriz-1)
 - TIMP 2 (Inhibidor de tejido de metaloproteasa de matriz-2)
 - TP 53 (p53)
 - AgNOR (proteínas asociadas a las regiones organizadoras nucleolares argirófilas)
 - PTEN (Fosfatasa y homólogo de tensina deletado en el cromosoma 10)
 - STAT (proteínas transductoras de señal y activadoras de la transcripción)
 - p-AKT
 - Cyclina A
 - 56 Kinasa
- Proliferación:
 - Ki 67
 - PCNA (Antígeno nuclear de proliferación celular)
 - AgNOR (proteínas asociadas a las regiones organizadoras nucleolares argirófilas)
- Regulación de la respuesta inmune.
 - CCL4 (MIP 1 β) (β -quimioquina)
 - CCL5 (RANTES) (β -quimioquina)
 - CD 274 (B7-H1)
 - CXCL 9 (MIG) (α -quimioquina)
 - CXCL 11 (I-TDC) (α -quimioquina)

- CXCR 3 (IP10) (α -quimioquina)
- SPP1 (osteopocitina)
- VTCN I (B7-H4)
- Moléculas de adhesión celular.
 - CDH 6 (Cadherina 6)
 - CDU 4 (
 - CTNNA 1 (gen humano de la α -catenina-1)
 - CTNNB 1 (gen humano de la β -catenina-1)
 - CTNNG (gen humano de la γ -catenina)
 - MUC1(EMA) (mucina epitelial humana)
 - MUC1- 6 (CA125)
 - L1CAM (Molécula de adhesión celular L1)
 - TACSTD 1 (Ep-Cam)
- Factores inducidos por hipoxia.
 - CA IX (Anhidrasa carbónica-9)
 - EN 6 (Endoglina)
 - HIF 1 (Factor inducido por hipoxia-1)
 - CA XII (Anhidrasa carbónica-9)
 - VEGF
 - VEGFR (Receptor del factor de crecimiento del endotelio vascular)
 - IGF-1 (Factor de crecimiento de insulina-1)
- Miscelaneas.
 - AQP1 (Aquaporina-1)
 - ADFP (proteína relacionada con la diferenciación adiposa)
 - DPYD (DPD) (Dihidropirimidina dehidrogenasa)
 - EBA 69
 - ECGF1 (TP) (Factor de crecimiento celular endotelial-1)
 - FHIT (Fragile histidine triad)
 - IMP3 (Insulin-like growth factor II mRNA-binding protein 3)
 - HLK6 (HK6)
 - NME (CD10)
 - NUDT 6 (bFGF) (factor básico de crecimiento de los fibroblastos)
 - PT6S2 (COX2)
 - VHL (Von Hippel Lindau)
 - VIM (Vimentina)

- Ferritina
- NMP-22 (Proteína de matriz nuclear-22)
- Neopterin
- TAT1 (Proteína transportadora de aminoácidos)
- TPS (Tissue polypeptide specific antigen)
- Gamma-Enolasa
- Piruvato Kinasa tipo M2
- iNOS (sintasa inducible del ácido nítrico)
- Receptor Tirosine Kinasa EphA2
- TS
- CD10
- CD154
- Vinculina
- Gelsolina

5.2.9.1. Marcadores de Apoptosis.

- **BCL-2.** El gen bcl-2 codifica una proteína conocida por inhibir la apoptosis. Su inmunexpresión varía según los distintos estadios en el CCR entre el 10 y el 80%. La sobreexpresión sugiere que este gen se implica en la tumorigénesis y podría explicar la resistencia del CCR a los agentes quimioterápicos y a la radiación¹⁸⁸. Algunos estudios han encontrado una correlación de sus niveles de expresión con un mayor grado tumoral, pero no con la recurrencia, metástasis o supervivencia^{189, 190}. La figura 12 muestra tejido de CCR con y sin expresión de este marcador.

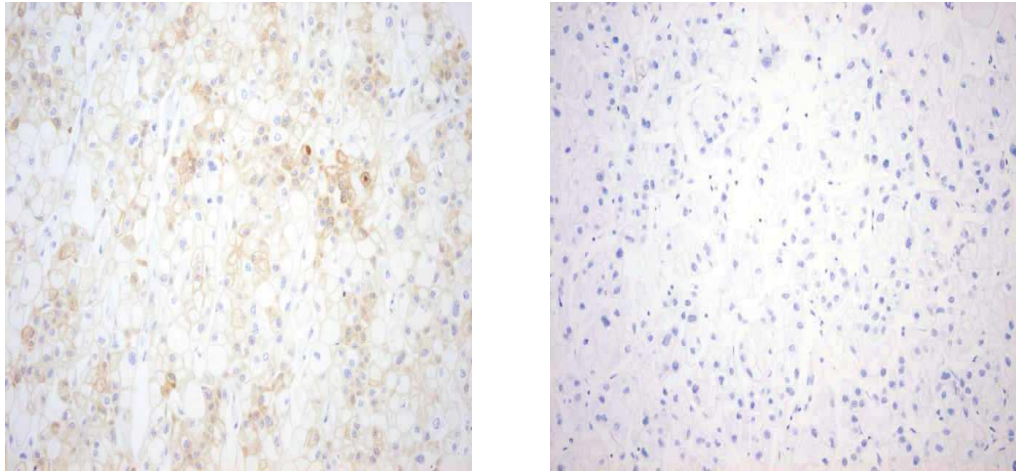


Fig. 12. La primera fotografía muestra tejido tumoral con expresión de bcl-2. En la segunda se aprecia tejido sin expresión de la proteína.

- **Survivina.** Proteína que pertenece a la familia de las AIP (proteínas inhibidoras de apoptosis) ^{191, 192}. En algunos estudios, su expresión resultó un factor predictivo independiente de fallecimiento en el CCR ¹⁹³. No se encuentra en tejido humano normal y se expresa con altos niveles en casi todos los tumores humanos estudiados, por lo que podría ser una diana terapéutica en el futuro ¹⁹¹.

5.2.9.2. Marcadores de Proliferación/Regulación del Ciclo Celular.

- **Ki 67.** Proteína nuclear que se expresa en las fases G1, G2, G3 y M del ciclo celular y ausente en fase de reposo por lo que se considera un buen marcador de proliferación celular ^{194, 195}. Su inmunexpresión se ha asociado con estadios clínicos avanzados y con CCR de peor pronóstico ¹⁹⁶. En estudios realizados con tumores de bajo estadio (T₁) no se encuentra correlación con supervivencia. La utilización de la expresión de Ki67 en el CCR como marcador tiene la dificultad de no poder usar análisis semicuantitativos debido al crecimiento lento de estos tumores,

precisándose por tanto, valoraciones cualitativas difíciles de realizar como prueba de rutina ¹⁸⁶.

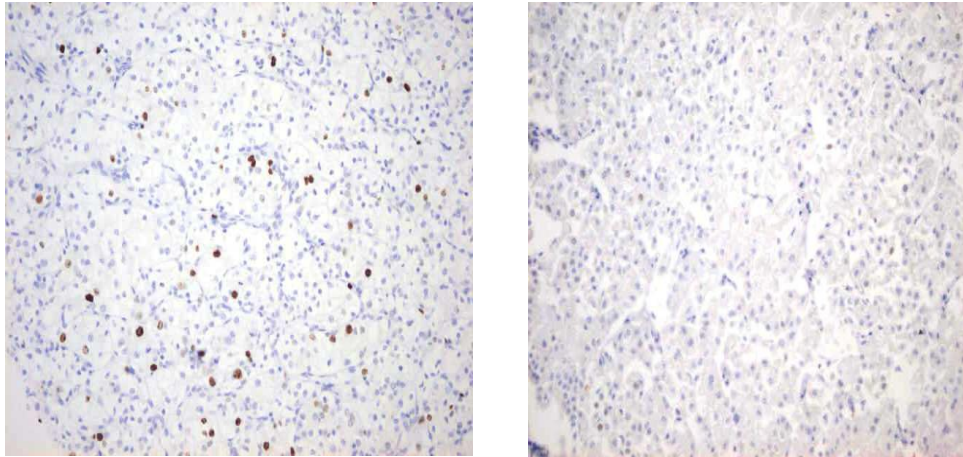


Fig. 13. Expresión de ki67 (primera fotografía) frente a no expresión del mismo.

- **P21. (waf1/cip1).** Proteína tisular, inhibidor de ciclina kinasa-dependiente, y diana de p53. Aunque existan pocos estudios, parece una potente proteína supresora del crecimiento en cultivos celulares ¹⁸⁵. Actúa como una proteína reguladora del ciclo celular modulando la apoptosis. En CCR, su expresión, ha obtenido valor pronóstico. En tumores localizados, los altos niveles de p21 nuclear se asocian con mejor pronóstico, y en tumores metastásicos, los altos niveles tanto en núcleo como en citosol se asocian a peor supervivencia. Niveles elevados de p21 en citoplasma en el tumor primario fue un factor independiente de mal pronóstico en pacientes con enfermedad a distancia mientras que la expresión de p21 en núcleo en el tumor primario se asoció con mejor pronóstico en pacientes con enfermedad localizada ¹⁹⁷.
- **P53.** Gen supresor tumoral por excelencia, conocido como “el guardia del genoma”, juega un papel primordial en la regulación del ciclo celular e induce la apoptosis cuando se daña el DNA ¹⁹⁸. Su expresión oscila entre el

16 y el 57%^{199, 200, 201, 202}. Su sobreexpresión varía según los subtipos, siendo más importante en los papilares¹⁸⁹. En diferentes estudios se ha visto que sería un factor predictivo independiente de mal pronóstico^{199,200}, así como de recurrencia tras nefrectomía. Se localiza en el cromosoma 17p13.1 y codifica una proteína de 53KDa²⁰².

- **P27.** Importante regulador del ciclo celular, lo hace a nivel de la transición G1/S modulando la acción de una ciclina kinasa-dependiente (ciclina E-CDK2)²⁰³. Los niveles de p27 aumentan con la célula en reposo y disminuye con la estimulación de antígenos, por lo que es posible que su pérdida de expresión pueda indicar desarrollo o progresión tumoral. Varios estudios muestran una relación entre bajos niveles y peores estadios y mayores grados tumorales, siendo un factor independiente de mal pronóstico en CCR de células claras^{204, 205, 206}. Los tumores de células claras y los papilares expresan p27 más frecuentemente que los cromófobos²⁰⁶.
- **PTEN.** El gen supresor tumoral PTEN (*phosphatase and tensin homologue deleted from chromosome 10*) se localiza en 10q23 y codifica de forma dual una proteína específica y una fosfatasa fosfolipídica que contribuye a la regulación de varias señales de transducción que afecta a la proliferación, apoptosis y migración celulares²⁰⁷. PTEN inhibe la fosforilación de Shc (Src-homólogo del colágeno) tras la estimulación del factor de crecimiento epidérmico lo que bloquea la vía Ras-Raf-MAPK. Una segunda acción deriva de su actividad fosfatasa mediante la defosforilación e inactivación de una kinasa de adhesión focal (FAK) actuando en la interacción entre la matriz extracelular y el citoesqueleto, mediante una regulación negativa de las integrinas. PTEN actúa como fosfatasa fosfolipídica utilizando como sustrato el 3, 4, 5 fosfatidil inositol fosfato (PIP3). La ausencia de PTEN hace que la proteína kinasa B

(AKT/PKB), esté permanente activada por los altos niveles de PIP3, lo que promueve la proliferación celular. PTEN está con frecuencia deletado o mutado en carcinomas avanzados de otros órganos (próstata, vejiga, melanoma, pulmón) y su expresión está siendo investigada en el CCR. La expresión del mismo se ha objetivado tanto en núcleo como en citoplasma y se desconoce el valor pronóstico de la expresión a uno u otro nivel (Fig. 14, 15 y 16).



Fig. 14. CCR con expresión nuclear de PTEN (20x)

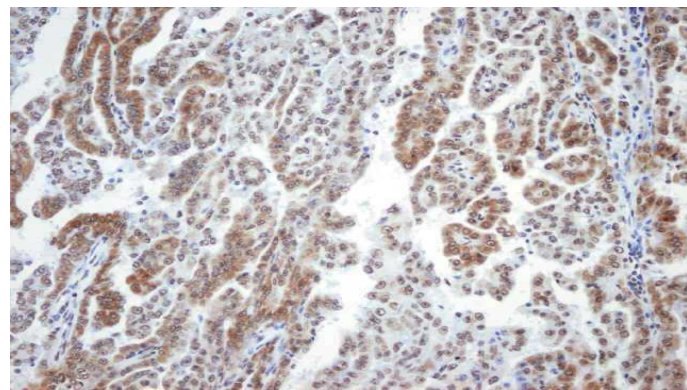


Fig. 15. CCR con expresión citoplasmática de PTEN (20x)

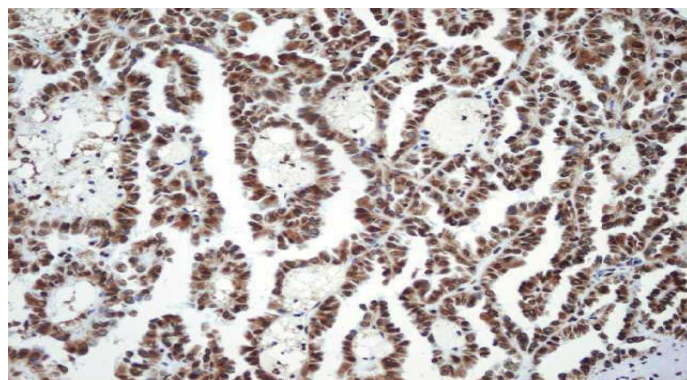


Fig.16. CCR con expresión citoplasmática y nuclear de PTEN (20x).

PTEN se expresa de forma casi ubicua en el citoplasma de células epiteliales ricas en fosfatasa. Lo hace de forma intensa en células epiteliales del túbulo proximal (origen del CCR de células claras) de riñón normal y muy débilmente en el túbulo distal ²⁰⁸. Este hecho permite que PTEN pueda ser considerado un marcador del CCR de células claras y no de cromóforos ni papilares, aunque el significado pronóstico y sus valores de expresión aún están en estudio.

5.2.9.3 Moléculas de Adhesión Celular.

Las moléculas de adhesión celular (CAM) son glicoproteínas ubicadas en la superficie celular que constituyen receptores celulares, que también se encuentran en la matriz tisular y mediante las cuales se efectúan interacciones célula-célula y célula-matriz. Tienen en un extremo un grupo carboxilo, fijo en el citoplasma y en el citoesqueleto, una región transmembranosa, que atraviesa la membrana celular y un grupo amino-terminal que da la especificidad a la molécula para unirse con otras CAMs u otras moléculas. Pueden ser de cadena única o doble y éstas con ambas células iguales (homodiméricas) o distintas (heterodiméricas). Existen 5 tipos descritos: Cadherinas, derivados de inmoglobulinas, integrinas, selectinas, proteoglicanos (poca relación con el CCR en su uso como marcador).

- Cadherinas: Moléculas monoméricas, que constituyen receptores homofílicos (se unen a CAM idénticas con ellos) estableciendo contacto célula-célula. Su acción es calcio-dependiente y temperatura dependiente. Las más estudiadas en el CCR son la E-cadherina y la N-cadherina.
- Familias de las inmoglobulinas: Son receptores celulares que incluye un gran número de proteínas con diversas funciones. Comparten una región

de 60-100 aminoácidos entre 2 cisternas dispuestas en 2 bandas antiparalelas unidas por puntos de disulfuro. Algunas de estas CAMs son secretadas y dejan de ser receptores de superficie. Pueden ser mono-, di- o heterodiméricas, homofílicas o heterofílicas y reaccionar con células homotípicas o heterotípicas.

Entre estas CAMs figuran:

- Inmunoglobulinas.
- Receptores de células T (TCR).
- Receptores CD3 (se asocian al TCR para reconocimiento de linfocitos T).
- Complejo HLA I y II.
- N-CAMS: Se encuentra en los neuronas.
- PE-CAMS: Se encuentra en las plaquetas y endotelio.
- Receptores del PDGE (factor activador de plaquetas).
- ICAM: (molécula de adhesión intercelular).
- VCAM: Moléculas de adhesión vascular.
- Múltiples receptores, entre ellos los CD (CD-1, CD-2, CD-3, CD-4, CD-7, CD-8, CD-19, CD-22, CD-28, CD-31, CD-44, CD-54, CD-58).

Como marcador del CCR se ha estudiado principalmente el CD-44, proteína implicada en la interacción célula-matriz y que se muestra relacionada con el grado celular y siendo un factor pronóstico independiente.

- Integrinas: receptores de membrana heterodiméricas que median interacción célula-célula y célula-matriz, formados por 2 cadenas α y β . Existen 8 familias β -1 a β -8 integrinas.
- Selectinas o LEC-CAMs: receptores de adhesión monoméricos cuya región extracelular aminoterminal contiene una porción semejante a lecitina, un dominio parecido al factor de crecimiento epidérmico (EGF) y varias

estructuras semejantes a proteínas reguladoras del complemento (LEC: Lectina-EGTF-complemento). Existen 3 tipos descritos: L-Selectina; E-Selectina (ELAM-1); P-Selectina, encargada de la adhesión de los fagocitos a las plaquetas activadoras y al endotelio. Es la más estudiada en cuanto a su posible uso como marcador^{209, 210}.

5.2.9.4 Marcadores de Inmunomodulación.

- **B7H1.** Glucoproteína de superficie que actúa como molécula coestimuladora de las células T. La familia B7 se consideran moléculas relacionadas con las células presentadoras de antígenos, mediante su unión a las moléculas CD-28 de las células T. La B7H1 ha sido implicada como potente regulador negativo de inmunidad antitumoral por inducción de apoptosis por células T1, disminuyendo la producción de citokinas y el efecto citotóxico de las células T activadas^{211, 212, 213}. Se sospecha un daño en la función de las células T en caso de expresión aberrante de este marcador. Thompson²¹⁴ mostró que pacientes con alta carga de expresión de B7H1 tenían 4.5 veces más probabilidad de morir por el CCR, también un alto porcentaje de tumores metastásicos mostraban altos niveles de B7H1²¹⁵. La supervivencia libre de enfermedad a 5 años fue del 83% vs 42% para pacientes que no mostraban altos niveles de este marcador con respecto a los que sí lo hacían²¹⁶, incluso tras comprobar la progresión por estadio, grado y *performance status*.
- **B7H4.** Ligando corregulador de la familia B7, con función inhibidora de la inmunidad mediada por células T. Su expresión es normal en células linfoides; en el CCR se relaciona con hallazgos clínicos y patológicos adversos: síndrome constitucional, necrosis tumoral, mayor tamaño,

grado, estado tumoral, con una probabilidad tres veces mayor de morir por el carcinoma renal²¹⁷.

5.2.9.5 Moléculas de degradación de la matriz extracelular.

En este grupo destacan las metaloproteasas de matriz (MMP), enzimas proteolíticos Zinc-dependientes capaces de degradar los componentes de la matriz celular. Los dos más relacionados con el CCR son los tipos 2 y 9 (MMP-2 y MMP-9, ambos asociados a mal pronóstico tumoral^{218, 219, 220}).

5.2.9.6 Otros marcadores.

- **Gelsolina.** Es un miembro de la familia de proteínas de unión a la actina y se ha relacionado con múltiples tumores humanos: vejiga, próstata, pulmón, mama e intestino^{221, 222, 223, 224, 225}. En células no neoplásicas la gelsolina actúa en los cambios dinámicos en el citoesqueleto uniéndose a la actina y favoreciendo la motilidad, así mismo, también se ha descubierto su relación con vías de señalización y apoptosis. En el riñón adulto normal se expresa ampliamente en el túbulo distal y en los conductos colectores. En tumores de otros órganos se ha descrito tanto infra como sobreexpresión de la misma, pero a nivel renal tendría una función supresora tumoral y su infraexpresión marcaría un peor pronóstico²²⁴.

5.2.9.7 Moléculas inducidas por hipoxia

- **Anhidrasa Carbónica IX (CAIX).**

La anhidrasa carbónica IX, también llamada G250, juega un papel fundamental en la regulación del pH intra y extracelular en periodos de hipoxia en células

tumorales ²²⁶. En 1999 Murakami y col. ²²⁷ observaron que la expresión del marcador tisular MN/CA9 (actualmente denominado CAIX) podía ser un potencial biomarcador diagnóstico en el CCR de células claras. CAIX está ausente en la mayoría de los tejidos humanos normales con la excepción de las células del epitelio de la mucosa gástrica, páncreas y conducto biliar, mientras que se expresa de forma muy importante en el carcinoma de células renales de células claras, y no así en tejido renal normal, por ello, su expresión puede ser útil como biomarcador ^{228, 229}. Su expresión en la célula tumoral renal se halla bajo el control del factor inducido por hipoxia. Además de en los CCR de células claras, también se pone de manifiesto, aunque en menor grado, en el papilar y en el fusocelular y siempre está ausente en los oncocitomas y en el carcinoma de tipo cromóforo ²³⁰.

CAIX se encuentra en la cascada sobre la que actúa el gen VHL. Tiene un papel supresor y su expresión está en parte regulada por la hipoxia celular a través del HIF-1 α ²³¹. La pérdida de función de VHL puede llevar a un acúmulo de HIF-1 α , con el consiguiente aumento de CAIX ^{231, 232}.

Múltiples informes avalan la positividad de la CAIX en los CCR con expresión de hasta el 94% de las muestras, siendo positivas tanto en tejido renal tumoral como en metastásicas ^{197, 233}. Un punto de corte para pronosticar supervivencia es el 80%, de tal forma, que los niveles menores se comportan como factor independiente de mal pronóstico y peor supervivencia en CCR de células claras metastásicas ²³³. En pacientes no metastásicos con alto riesgo de progresión, su baja expresión también predice una peor evolución similar a los pacientes con enfermedad metastásica ¹⁹⁷.

Su expresión también ha servido para predecir la posible respuesta a tratamiento con IL-2 ²³³. Bui y col. observaron que todas las repuestas

completas al tratamiento (8%) fueron pacientes con altos niveles de expresión (>85%) en el tumor primario. Otros autores confirmaron estos hallazgos, verificando una probabilidad del doble de respuesta a IL-2 cuando la expresión estaba por encima de este punto de corte ²³⁴. Estos hallazgos permiten que la inmunoexpresión de este marcador pueda ser útil para la selección de pacientes para estos tratamientos al tener una mayor probabilidad de respuesta. Así mismo estas observaciones podrían explicar por qué los pacientes con tumores papilares y cromófbos, los cuales expresan menos o no expresan CAIX tienen una escasa respuesta a tratamientos con IL-2. Gilbert y col. ²³⁵ también detectaron la expresión de CAIX en sangre periférica mediante RT-PCR estando su presencia asociada a una menor supervivencia libre de enfermedad, de tal forma que podría considerarse un marcador cáncer-específico.

Recientemente se han publicado varios estudios con tratamientos en fase I basados en vacunas obtenidas de péptidos derivados de CAIX. Uemura ²³⁶ obtuvo 3 respuestas parciales y 6 estabilizaciones de la enfermedad en 23 pacientes tratados sin efectos secundarios adversos. Bleumer ²³⁷ en un estadio fase I investiga el uso de células dendríticas cargadas de péptidos CAIX en pacientes con CCR metastásico refractarios a citoquinas, aunque sin respuesta clínica. Lamers ²³⁸, mediante un receptor tipo anticuerpo de cadena única (SCFv) basado en el anticuerpo monoclonal G250 que reconoce un epítipo de CAIX introducido mediante retrovirus en linfocitos T autólogos, realizó un tratamiento a 3 pacientes con CCR metastático. Se asoció dicho tratamiento a IL-2 observando citolisis específica de las células marcadas con CAIX ⁽⁺⁾ en todos los pacientes junto con la producción de IFN- γ . Sin embargo se produjo una importante toxicidad hepática probablemente por ataque de células T contra las células del epitelio del conducto biliar, lo que imposibilita el uso de este tratamiento en estas condiciones.

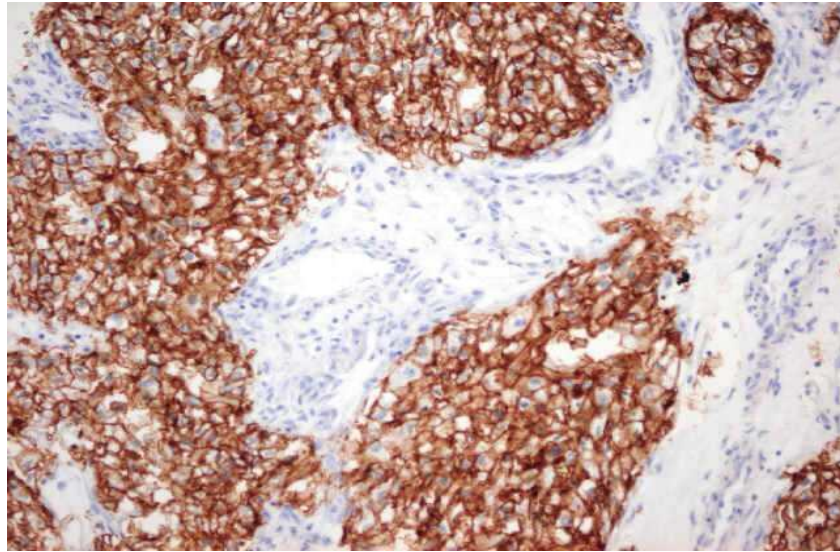


Fig. 17. Tejido de CCR con intensa expresión de CAIX (20x).

6. ANGIOGÉNESIS E HIPOXIA.

6.1 ANGIOGÉNESIS.

Los tumores en su crecimiento necesitan determinadas alteraciones adquiridas dentro de la fisiología celular que permitan escapar de la regulación normal a la que la célula no neoplásica está sometida. Precisan unas señales de crecimiento no autolimitadas, ausencia de sensibilidad a las señales de inhibición del crecimiento, escape al programa normal de apoptosis celular, ausencia de límites al potencial celular de replicación, un mantenimiento de angiogénesis que permita el aporte de nutrientes y oxígeno a las células neoplásicas, invasión de la matriz extracelular y la posibilidad de migrar y establecerse en otros órganos²³⁹. Durante la angiogénesis se desarrollan nuevos vasos desde los ya existentes, en periodo embrionario a partir de células madres y fibroblastos, y postparto en condiciones de formación/reparación de órganos y en procesos patológicos (v.g. en neoplasias).

La forma más frecuente de formación de nuevos vasos acontece mediante la formación de brotes ("*sprouting*"). En ella se produce una degradación proteolítica de la matriz celular y migración quimiotáctica con proliferación local de células endoteliales formando inicialmente un endotelio inmaduro que posteriormente adquiere luz y se hace funcional^{240, 241}. Existe, asimismo, una angiogénesis independiente de la proliferación local de células endoteliales ("*Non-sprouting*"), relacionada con intususcepción de vasos preexistentes, reclutamiento de células progenitoras endoteliales y formación de mosaicos vasculares, etc. con gran importancia en la biología del cáncer²⁴². (Fig. 18)

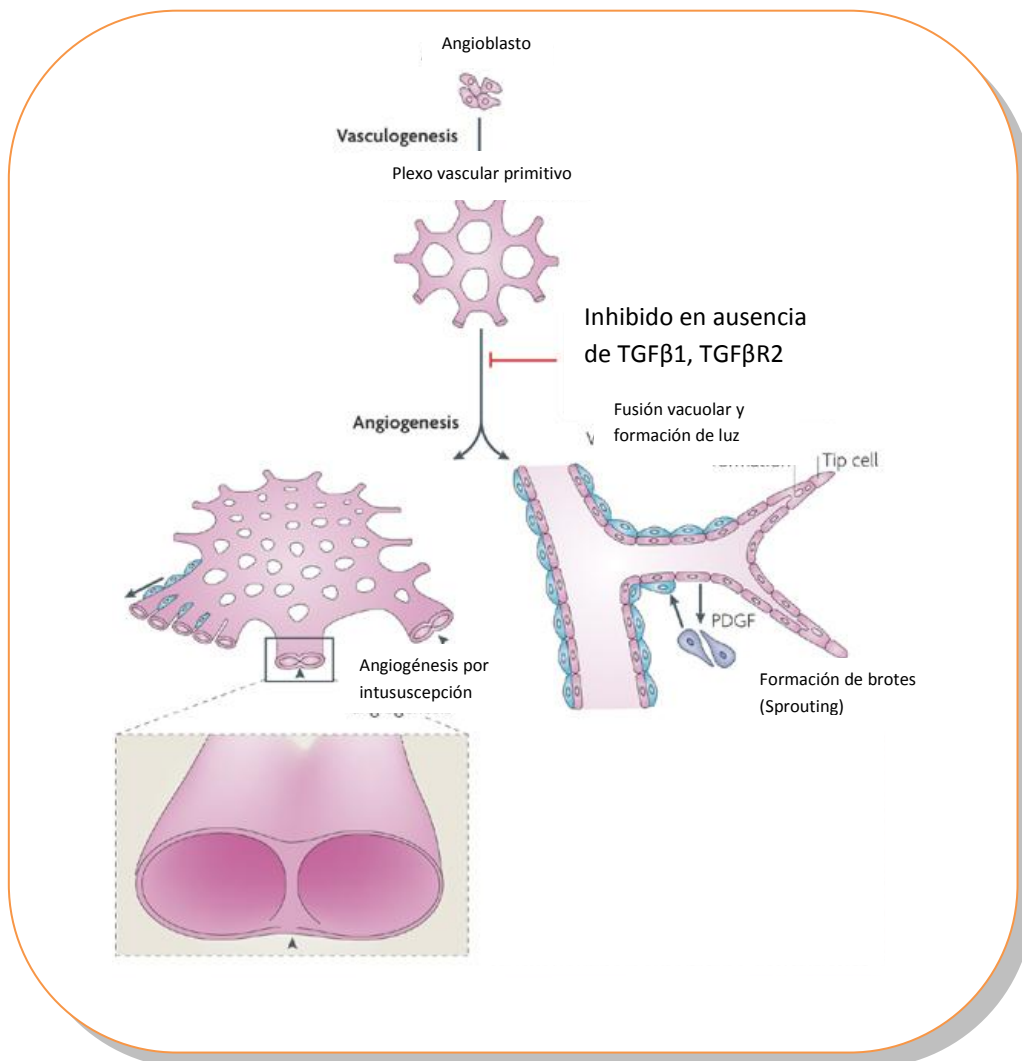


Fig. 18. **Vasculogénesis y angiogénesis.** Modificado de Ten Dijke P. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2007;8: 857-869.

6.2. REGULADORES DE ANGIOGÉNESIS.

Conocemos una serie de factores que estimulan la angiogénesis y otros que la inhiben y de su balance depende el resultado final. El factor estimulante más potente conocido es el factor de crecimiento vascular del endotelio (VEGF), una

familia de proteínas que engloba varias moléculas: VEGF-A, -B, -C, -D, -E y el factor de crecimiento placentario (PGF). El gen que los codifica se encuentra en el cromosoma 6 y codifica 4 isoformas diferentes VEGF₁₂₁, VEGF₁₆₅ (forma predominante), VEGF₁₈₉ y VEGF₂₀₆. Su efecto se inicia al activar una cascada de señalización intracelular al unirse al receptor (VEGFR) de tipo 1 (VEGFR-1 ó FLT-1) o de tipo 2 (VEGFR-2 ó KDR ó FLK-1); esto produce una dimerización del receptor, su activación y autofosforilación del dominio tirosin-kinasa activando la mencionada cascada^{243,244,245}. La unión al VEGFR-2 es el principal promotor de angiogénesis. Existe un VEGF-3 cuya función está ligada a procesos fundamentalmente de linfangiogénesis. Tanto el VEGF como el factor de crecimiento de los fibroblastos (bFGF) actúan sobre la célula endotelial estimulando la formación de angiopoyetina-2 (Ang-2) lo que promueve un desprendimiento de los pericitos de la pared vascular y la desestabilización del vaso. Posteriormente se estimula la síntesis de proteasas con la degradación subsiguiente de la matriz extracelular y la migración y proliferación de las células endoteliales. Éstas, en los vasos neoformados, sintetizan factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) que actúa en los pericitos, que sintetizan angiotensina-1 (Ang-1) con acción antagónica a la Ang-2 con la consiguiente unión de los pericitos en los nuevos vasos y la estabilización de los mismos. La posterior síntesis de factor de crecimiento transformante- β (TGF- β) provoca la maduración de los vasos neoformados^{241, 246}. Este ciclo explica que durante la fase de angiogénesis se expresen y se puedan cuantificar moléculas como las metaloproteasas de matriz (MMP), el activador del plasminógeno para la degradación de la matriz extracelular, las integrinas para la adhesión celular o las cadherinas para la estabilización y maduración de los nuevos vasos. La figura 19 esquematiza el proceso de maduración de los hemangiblastos y algunos de los factores que intervienen. En la tabla 8 se muestra una relación de moléculas con efectos en el proceso de angiogénesis.

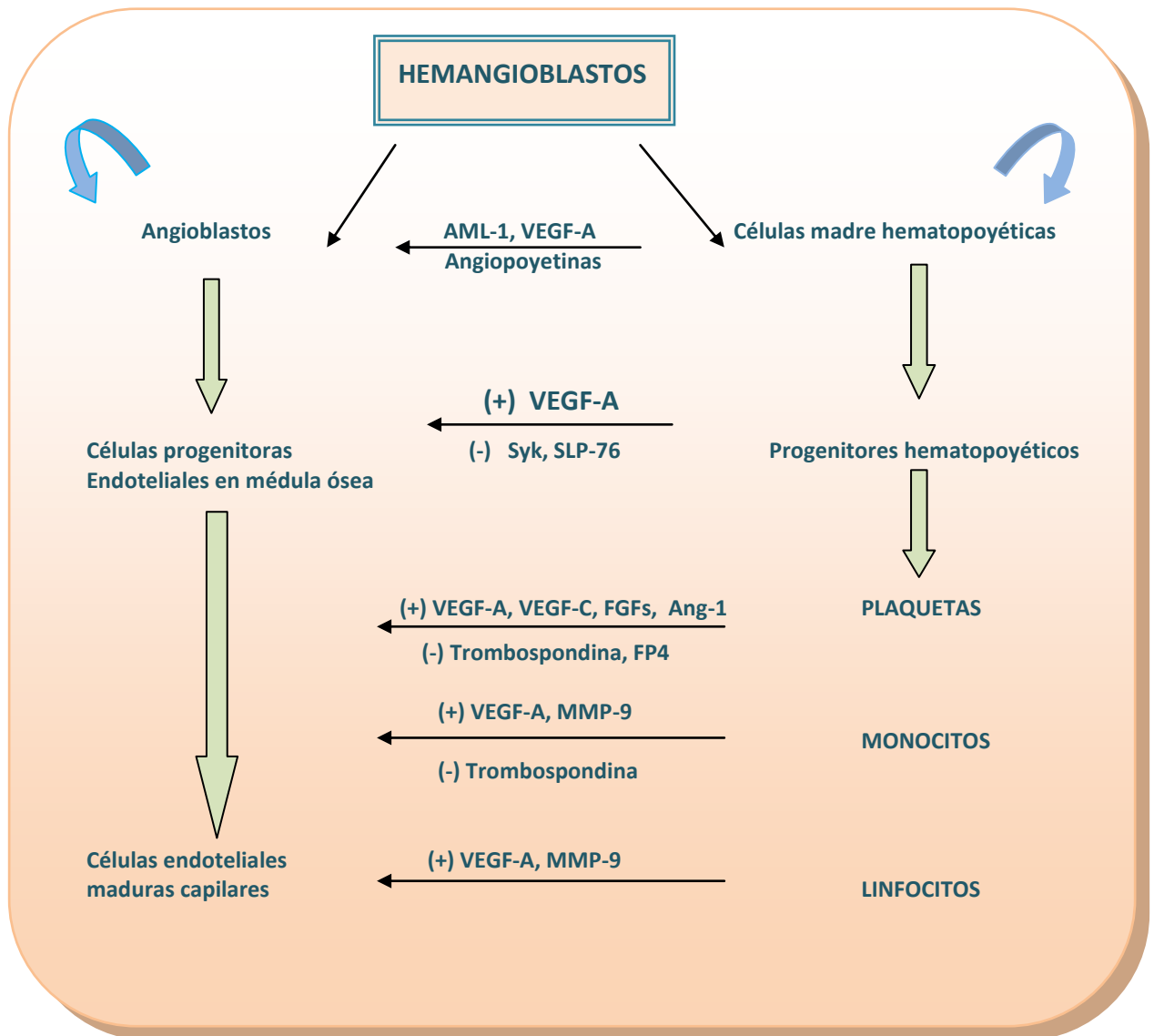


Fig. 19. Factores reguladores de la angiogénesis

Tabla 8. Moléculas que intervienen en el proceso de angiogénesis.

Actividad Inductora	Actividad Inhibidora
Adiponectina	Angioestatina
Adrenomodulina	Antitrombina III
Angiogenina	Constatina
Angiopoyetina I	Endostatina
Angiotensina II	Fibronectina
Endotelinas	Ghrelina
Eritopoyetina	Heparinasas
FGF	IFN α , β , γ
IL-8	IL 4, -12, -18
Leptina	Peptido natriurético
MCP-1	PAI
MMPS	PEDF
NOS	Fragmento de PRL 16KDa
PDGF	Retinoides
Resistina	Somatostatina
TGF	TSP-1
TNF- α	
Urotensina II	
VEGF	
B-Estradiol	

El predominio de factores que estimulan la angiogénesis sobre los que la inhiben va a dar lugar a que este balance ponga en marcha todas las cascadas que estimulen la función de vasos, y potencia otras cascadas interconexiónadas con esta cuyo resultado es el crecimiento, la proliferación celular, la falta de apoptosis y la ausencia de control del crecimiento celular. Múltiples situaciones desencadenan este desbalance e inician estas cascadas y vías de señalización y acaban por permitir a la célula no actuar frente a señales inhibitoras y de control celular. De ellas destacan la hipoxia, la acidosis, la hipoglucemia, diferentes respuestas inflamatorias, mutaciones genéticas, etc.

6.3 HIPOXIA Y CCR.

La respuesta celular a la hipoxia es un mecanismo de respuesta de supervivencia celular, que da lugar a procesos de glucólisis, angiogénesis, vasodilatación, modificaciones del metabolismo del hierro y eritropoyesis entre otras. Estos cambios están moderados por una proteína, el HIF (factor inducido por hipoxia) cuyos niveles vienen dados por la situación de hipoxia celular, de tal forma que su interacción con la proteína VHL determina la regulación de otros genes asociados con angiogénesis, adaptación a cambios del pH, eritropoyesis, transporte de glucosa, etc.

6.4 BIOLOGÍA DEL GEN VHL.

Localizado en el brazo corto del cromosoma 3 (3p25-26), contiene 3 exones que codifican la proteína del mismo nombre, de 213 aminoácidos a través de un ARN mensajero de 4.5 Kb^{247, 248}. El promotor de VHL contiene lugares para múltiples factores de transcripción como Sp-1, PAX, AP-2 o el factor respiratorio nuclear-1²⁴⁹. Se han descrito 2 isoformas de la proteína VHL, una de 24 a 30 KDa y otra menor, de 18-20 KDa de comportamiento biológico aparentemente similar^{250, 251}.

La pVHL contiene 2 subdominios el α y el β ; el primero formado por 3 hélices α es el que se unirá a la elonguina C. El β le sirve para unirse al HIF a través del dominio de degradación dependiente de oxígeno (ODD) de este último. La pVHL precisa, por tanto, de su unión a otras moléculas para poder ser activa en el interior de la célula. Una de ellas es la elonguina, consistente en un heterodímero formado por 3 subunidades. La elonguina A es una subunidad transcripcionalmente activa y las subunidades B y C son reguladoras del complejo. La pVHL, mediante su dominio α , se une específicamente a la elonguina C mediante un segmento de 13 aminoácidos, que son idénticos a la elonguina A, de tal forma que existiría, al menos teóricamente, una

competencia entre pVHL y elonguina A. Una vez formado el complejo pVHL-elonguina C-elonguina B, éste se une a una cuarta proteína, la Cul2, un miembro de la familia de proteínas Cdc53, paso previo imprescindible al proceso de ubiquitinización necesario para la degradación del complejo por el proteasoma. Finalmente todo el complejo pVHL-elonguina C-elonguina B-Cul2 interacciona con la proteína Rbx1 momento en el cual es posible la ubiquitinización en el proteasoma^{252, 253}, (Figura 2). El papel final de todo este complejo pVHL-elonguina-B-elonguina-C-Cul2-Rbx1, es la regulación intracelular de los niveles de HIF en condiciones de normoxia e hipoxia (Fig. 20).

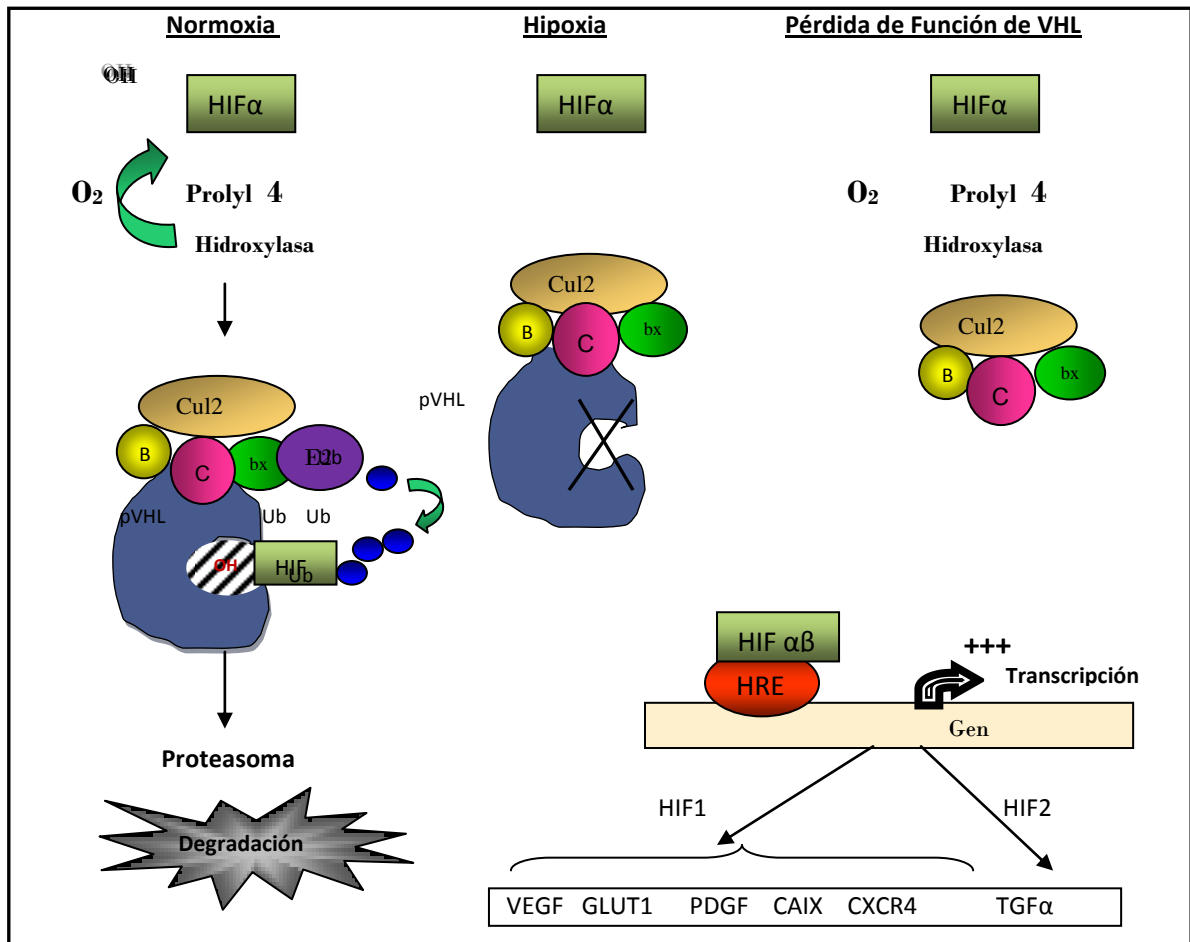


Fig. 20.- Mecanismo de inducción de la proteína HIF y activación de genes diana en condiciones de normoxia e hipoxia.

6.5. HIF Y VÍA DE RESPUESTA A LA HIPOXIA.

La hipoxia es una reducción de los niveles normales de la tensión de oxígeno. Este hecho sucede de forma normal en múltiples patologías benignas, pero también a nivel tumoral, puesto que las células tumorales en su crecimiento se alejan de los vasos existentes con el consiguiente descenso de la oxigenación. El mediador clave en todo el proceso de cascadas intracelulares que surgen como respuesta a esta hipoxia es el HIF. Existe una relación directa entre la disponibilidad de oxígeno y la activación de cascadas transcripcionales que regulan muchas de las respuestas a la hipoxia^{254, 255}. Un enzima, la prolin-hidroxilasa, que utiliza el oxígeno como sustrato es capaz de modular su actividad según la concentración de oxígeno en el medio en condiciones fisiológicas.

El HIF es un heterodímero que consta de 2 cadenas, una subunidad α y una β . La α cuya concentración es O_2 -dependiente está situada en el citoplasma, y la β que se expresa de forma constitutiva, es independiente de la concentración de oxígeno. Ambos son miembros de la subfamilia PAS (Per/ARNT (*aryl hydrocarbon nuclear transporter*)/Sim) de factores de transcripción bHLH (*basic helix-loop-helix*). Han sido descritas 3 isoformas de la subunidad α y otras 3 de la β . HIF-1 α es una proteína de 826 aminoácidos y unos 120kDa, HIF-2 α tiene 874 aa y 115 kDa y HIF-3 α 668 aa y 73kDa²⁵⁶. Aunque las secuencias proteicas de las subunidades HIF-1 α (EPAS1) y 2 α (MOP2) son muy similares, ambas se expresan por loci individuales y están sujetas a las mismas regulaciones postranslacionales y tienen los mismos genes diana^{257,258}. Sin embargo HIF-3 α tiene una secuencia de proteínas diferentes y juega un papel negativo en la respuesta hipóxica, formando parte de un bucle regulador (*feedback*) dependiente de la subunidad HIF-1 α ²⁵⁹. La sobreexpresión de HIF-2 α es importante en el desarrollo del CCR y se ha sugerido que es más oncogénico que HIF-1 α ²⁵⁸. El complejo HIF α - β actúa como factor de transcripción de los diferentes genes implicados en hipoxia (Tabla 9), variando su actividad según los niveles de O_2 .

Bajo condiciones de normoxia la subunidad α (citoplasmática) se encuentra hidroxilada por medio de la acción del enzima hidroxiprolil-hidroxilasa (HPH). La hidroxilación se produce en los residuos Pro 402 y Pro 564 de la subunidad α , precisando oxígeno molecular y 2-oxoglutarato como sustrato ²⁵³. La hidroxilación de un residuo de asparagina de HIF- α bloquea su interacción con el coactivador P300. Además, la unión pVHL-HIF α se regula por acetilación del HIF en Lys 532. En condiciones de hipoxia se produce un descenso de la actividad de la HPH; el HIF no hidroxilado no se une al complejo VHL por lo que se acumula en la célula al no ser degradado, iniciándose la cascada de eventos previamente descritos. Además, en estas condiciones también está inhibida la acetilación del HIF α , lo que también impide la unión de HIF- VHL complejo. Una vez que aumentan los niveles de HIF α en la célula, éste se dimeriza con HIF- β , activándose a nivel nuclear y uniéndose a las secuencias específicas de DNA del promotor “diana”. Es aquí donde se reclutan los coactivadores necesarios (p300/CBP, Ref-1, Jab1. SCR-1, TIF2, etc), lo que inicia la expresión de multitud de genes siendo uno de los más importantes el VEGF ^{256, 260}.

Tabla 9.- Genes implicados en cascada HIF.

FLT-1	MMP-1	ET-1(Endotelina-1)
VEGF	LEPTINA	ENDOGLINA
RECEPTOR DE TRANSFERRINA	LACTASA	VEGF DERIVADO DE GLANDULAS ENDOCRINAS
TRANSFERRINA	LDHA(Lactato deshidrogenasa A)	CD 73
TELOMERASAS	INTESTINAL TREFOIL FACTOR	DEC-1,-2(Gen delecionado en cáncer esofágico-1)
TGF- α,β	INTEGRINA $\beta 2$	CXCR4(Receptor de quimiokinas 4)
ROR- α (Receptor del ácido retinoico)	IGF-2	CYP3A6(Subgrupo de citocromo P450)
PH α (I)(procolágeno proil-4-hidroxilasa α (I))	ID2(Inhibidor de diferenciación/DNA)	CTGF(Factor de crecimiento del tejido conectivo)
PAI-1(Inhibidor 1 del activador del plasminógeno)	HGTD-P(Human growth and transformation-dependent protein)	C-MET
PFKFB3 y 4(6-fosfofructo-2-kinasa /fructosa-2-6-bifosfatasa-3,-4)	EGLN1(HIF-1 α proil-hidroxilasa-PHD2)	CERULOPLASMINA
PGK-1(Fosfoglicerato kinasa-1)	EGLN3(HIF-1 α proil-hidroxilasa-PHD3)	CR18/INTEGRINA $\beta 2$
CITED2(p35srj)	HO-1(Heme oxigenasa-1)	CAIX
NUR 77	GRP94(proteína regulada por glucosa 94kDa)	ANP(Péptido natriurético atrial)
NIP3	GAPDH(Gliceraldehído-3-fosfato.deshidrogenasa)	ALDOLASA-A, -C
NOS-2(Sintasa del óxido nítrico-2)	GLUT1,3(Transportador de glucosa 1 y 3)	ADRENOMEDULINA
MCL-1(Factor de células mieloides-1)	EPO	ADENILATOKINASA-3
MDR-1(multiresistencia a drogas)	ENOS(Sintasa endotelial del ácido nítrico)	RECEPTOR ADRENERGICO $\alpha 1B$
SDF-1(Factor derivado del estroma)	ENOLASA 1	ABCG2/BCRP (Proteína de resistencia del cáncer pulmonar)

De forma similar a lo que sucede en cuadros de hipoxia, mutaciones del gen VHL²⁶¹ provocan una proteína pVHL anómala, lo que hace incapaz de unirse el HIF al complejo pVHL-elonguina-B-elonguina-C-Cul2, que da lugar a un

aumento de HIF intracelular con los mismos resultados ²⁵². En otros casos las mutaciones afectan al subdominio α por lo que la unión al resto del complejo está alterada, originando finalmente la misma situación de aumento de los niveles de HIF.

6.6. VIAS DE SEÑALIZACIÓN INTRACELULAR ASOCIADAS A HIF.

La activación de HIF-1 no solamente se produce en relación a la hipoxia ni está regulado únicamente por los niveles de tensión de oxígeno tisular. Existen otros estímulos que en condiciones de normoxia inducen la respuesta de HIF, entre los que destacan el óxido nítrico, metales de transición, radicales libres de oxígeno, factores de crecimiento, mecanismos de stress o activación de oncogenes ^{256, 262, 263}. La traducción de señales en las células cancerígenas es un proceso muy complejo en general mediado a través de receptores tirosin-kinasa (RTK). Se han descrito múltiples vías de señalización intracelular que trabajan de forma paralela y/o a través de interconexiones entre ellas que promueven el crecimiento, desarrollo y supervivencia de las células tumorales. Tres son las principales:

- Vía PI3K/AKT: phosphadyl-Inositol-3-kinasa.
- AKT-mTOR (*mammalian Target of Rapamycin*).
- Vía Ras/Raf/MAP-Kinasa.

6.6.1 Vía PI3K/AKT.

AKT (ó PKB) es una kinasa serina-treonina que actúa mediando una señal intracelular que afecta a multitud de funciones: apoptosis celular, metabolismo de la glucosa, progresión del ciclo celular, angiogénesis, invasión celular y metástasis, etc. Una mala regulación de esta vía da como resultado una proliferación incontrolada celular. A este nivel actúa el gen y su proteína PTEN, un gen supresor cuya expresión se encuentra reducida, ausente,

mutada o delecionada en el CCR. Se ha observado pérdida de PTEN en aproximadamente un 20% de los CCR y LOH (pérdida de heterocigosidad) en un 27%²⁶⁴.

El receptor de membrana puede ser estimulado de diferentes formas: factores de crecimiento (PDGF, EGF1, NGF, IGF,...), angiotensina II, Integrinas, Zn, Insulina, alteraciones oncogénicas, etc. Una vez estimulado el receptor la PI3K convierte el segundo mensajero fosfatidilinositol (4,5) P₂ en fosfatidil inositol (3,4,5)P₃ lo que induce la acción de AKT. PI3K es un heterodímero de 2 subunidades, catalítica y reguladora de 110 kDa y 85 kDa respectivamente; la unidad p110 es homóloga a otras proteín-kinasas, y está compuesta de una serina-treonina proteína-kinasa y una kinasa con actividad fosforiladora de fosfoinosítidos, de tal forma, que este receptor transmembrana hace que una señal extracelular se transforme en una señal intracelular. AKT tienen especial afinidad por los fosfoinosítidos D3 fosforilados; su activación da lugar cambios conformacionales de la proteína fosforilándose en 2 residuos: Tre 308 y Serina 473, lo que pone en marcha las múltiples cascadas mediadas por esta vía^{264,265, 266, 267}.

- Angiogénesis e invasión celular mediante eNOS.
- Invasión celular mediante NF-KB.
- Metabolismo de la glucosa mediante regulación de 6-fosfofumarato-2 kinasa.
- Regulación del ciclo celular mediante modulación de Mdm2, p21, p27, ciclina D y vía mTOR.
- Apoptosis celular mediante activación de FKHR y procaspasas.

Mediante la vía PI3K-AKT-mTOR se produce también una regulación de los niveles de HIF²⁶³.

6.6.2 Vía AKT-mTOR.

La mTOR es una serina-treonina kinasa clave en la regulación del crecimiento y la proliferación celular. Actúa directa o indirectamente en los

procesos, de organización de la actina en mitosis, la síntesis de RNAt, la biogénesis de los ribosomas, y degradación de proteínas y en funciones de transcripción. La inhibición de mTOR bloquea el ciclo celular en las fases G₁ a S₁ y lo hace inhibiendo la fosforilación del factor de iniciación de la translocación de las células eucariotas, la proteína 4EBP-1 y la proteína p70S6 kinasa de ribosoma 40S^{268, 269}. Además actúa regulando la síntesis de proteínas fundamentales en el ciclo celular como la ciclina D₁ y C-myc. En el CCR tiene una importancia extrema por la regulación, cascada arriba, de los niveles de HIF-1 α , de tal forma que la activación de la vía mTOR estimula los niveles y la actividad de HIF1 α en pacientes con pérdida de función del gen VHL^{270, 271}.

En pacientes con esclerosis tuberosa, la mutación de genes TSC1 y TSC2 incrementa la actividad de esta vía y altera la señal de PI3K-AKT a través de la regulación del receptor de PDGF y el aumento de VEGF^{272, 273}. Esto demuestra las interconexiones entre mTOR, la activación de angiogénesis tanto mediante HIF, como independientemente de este.

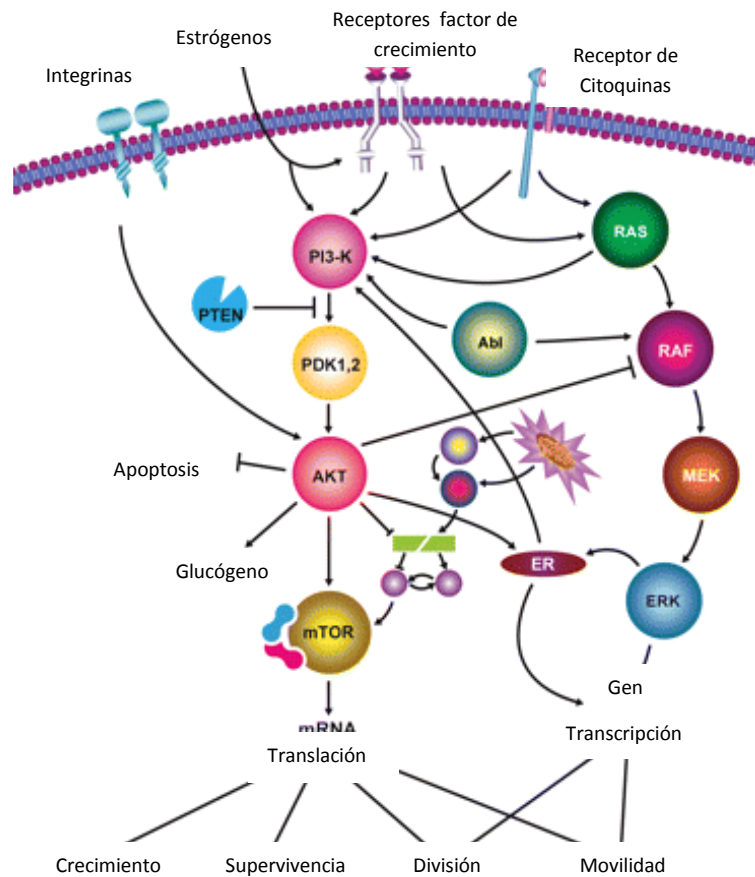
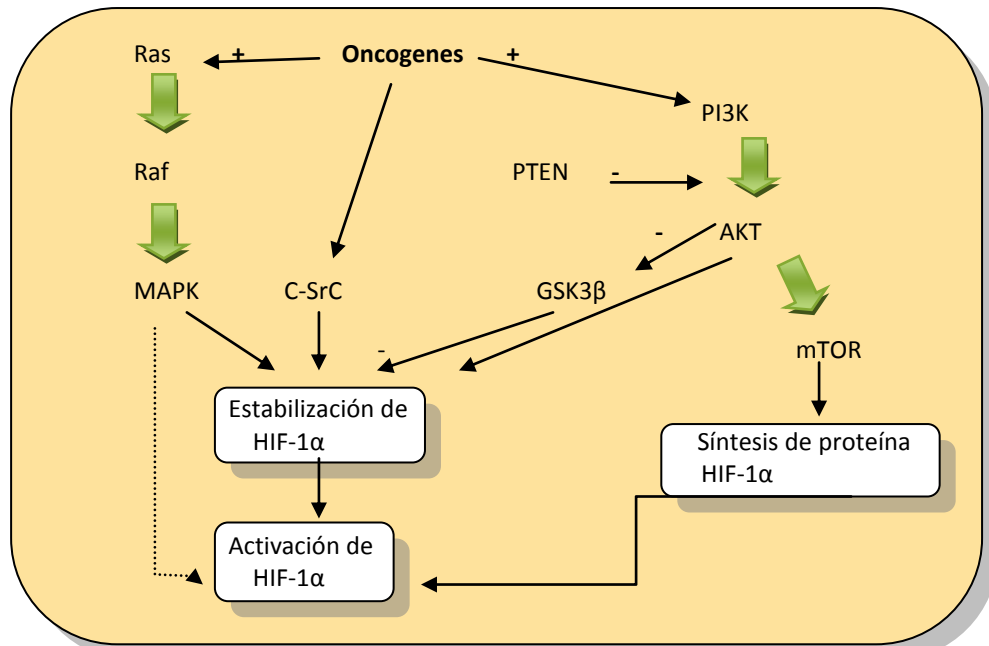


Fig. 20. *Interacciones entre vías de señalización intracelular asociadas a HIF.*

6.6.3 Vía Ras/Raf/MAPK (*mitogen activated protein kinase*)

Fundamentalmente mediada por el EGF y otros ligandos como la anfiregulina, el TGF α , el *heparin-binding*-EGF, la betacelulina, la epiregulina o la neurogelina G2 β , que se unen al EGF-R (ó receptor de tirosin-kinasa tipo 1 o erbB). Esta vía puede ser activada también a través del VEGFR y el PDGFR en las células endoteliales, de tal forma que juegue un papel fundamental en la regulación de la supervivencia de las células endoteliales durante el proceso de angiogénesis ²⁷⁴. Una vez unido ligando y receptor, este último adquiere dimensión dimérica uniéndose a otro similar lo que activa su función iniciando la fosforilación de la proteína Ras. Esto activa una cascada de fosforilaciones hasta activar la MAPK, que internaliza esta señal al núcleo celular activando otras proteínas (ciclinas las más importantes) y kinasas ciclina-dependientes que promueven la división celular ²⁷⁵. La actividad de HIF-1 está regulada

mediante la acción de varias cascadas independientes, de tal forma que tanto factores de crecimiento como señales augénicas pueden desencadenar la respuesta de HIF-1 α , por medio de la vía PI3K/AKT así como por la Ras/Raf/MAPK, aumentando la síntesis de HIF-1 α o su estabilización²⁴⁹ (figura 22).



Src: protooncogen que estimula directamente la expresión de VEGF a través de otros factores

Fig. 22. Mecanismos de regulación de HIF.

6.7. FUNCIÓN DEL VEGF Y VEGFR.

El VEGF es probablemente el factor estimulante más estudiado en relación al proceso angiogénico. También conocido como factor de permeabilidad vascular (VPF) es una glucoproteína dimérica de 34-36 kDa perteneciente a la familia de factores de crecimiento PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas). Se han descrito 6 subtipos VEGF-A,-B,-C,-D,-E y el factor de crecimiento placentario (PGF). Está codificado su gen en el cromosoma 6 (6p21,3) y lo hace a través de 6 isoformas diferentes VEGF^{-121, -145, -165, -183, -189, -206}, siendo la 165 la más importante^{243, 244, 245, 276}. El mediador más potente en

este proceso de angiogénesis es el VEGF-1 y en general es al que se refiere la literatura cuando sólo se menciona VEGF. Sus acciones se llevan a cabo a través de la unión a receptores (VEGFR), con 3 tipos descritos (VEGFR-1, -2, -3) de los que el tipo 2 es el más implicado en procesos de angiogénesis. La afinidad ligando-receptor se muestra en la tabla 10.

Tabla 10. Afinidad ligando-receptor del VEGF.

MIEMBRO DE LA FAMILIA	RECEPTOR	FUNCIÓN
VEGF- A	VEGFR-1 VEGFR-2 Neuropilina-1	Angiogenesis Mantenimiento vascular
VEGF-B	VEGFR-1	No establecida
VEGF-C	VEGFR-2 VEGFR-3	Linfangiogénesis
VEGF-D	VEGFR-2 VEGFR-3	Linfangiogénesis
VEGF-E (factor vírico)	VEGFR-2	Angiogenesis
PIGF	VEGFR-1 Neuropilina-1	Angiogenesis e inflamación

Así como el papel de VEGFR-2 parece claro y se expresa a niveles elevados en células endoteliales inmersas en procesos de angiogénesis y en células madre de médula ósea, el rol de VEGFR-1 no está establecido. Se sabe que VEGF se une a éste con una afinidad 10 veces mayor que a VEGFR-2 pero la señal transducida es extremadamente débil²⁷⁷. Incluso se ha propuesto que actúa como receptor “señuelo” que secuestraría VEGFR evitando su unión a VEGFR-2. VEGFR-1 induce la acción de uPA (activador de plasminogeno tipo urokinasa), TPA (activador de plasminogeno tisular) y MMP-9, lo que podría facilitar la invasión de la matriz extracelular. El mecanismo de acción más habitual de VEGF es paracrino, es decir, las células que segregan este factor no

son las que en su superficie tienen su receptor y sí células próximas a ellas. Así, las células endoteliales inmersas en procesos de angiogénesis son ricas en VEGFR pero ellas escasamente producen el factor ²⁷⁶. La unión extracelular de VEGF a su receptor ocasiona una dimerización de éste que lo activa, se autofosforila el dominio tirosin-kinasa (intracelular) dando lugar a toda una serie de cascadas de señales intracelulares relacionadas con la permeabilidad vascular, la supervivencia endotelial, la migración de ésta, su proliferación o el aumento de supervivencia de la célula tumoral. La proliferación celular descontrolada se debe a activación de oncogenes o a inactivación de genes supresores tumorales, por anormal señalización a respuesta de factores de crecimiento (myc), amplificación de señales de receptores de crecimiento (erb-B/EGFR, met), a la interferencia en la regulación del ciclo celular (ciclina D y E, p27, p53, p12b) o a la inhibición de la apoptosis (p53, Bcl-2) ^{278, 279, 280}. Se sabe que pueden existir receptores para el VEGF a nivel únicamente intracelular, sin que se exprese la parte extracelular del receptor, lo que implicaría un mecanismo de acción intracrino. Tiene importantes implicaciones desde el punto de vista terapéutico, puesto que los fármacos que bloquean los ligandos antes de su unión al receptor no serían eficaces en estos tumores ²⁷⁷.

Las neuropilinas-1 y 2 son receptores transmembrana sin actividad tirosin-kinasa con afinidad para VEGF₁₆₅, y actuarían modulando la angiogénesis y como co-receptores de VEGFR-2, lo que abre otra nueva vía de posibles fármacos antitumorales, al igual que el bloqueo de otros activadores del VEGFR, PlGF (factor de crecimiento placentario), PDGF o bFGF. Otra función de VEGF es supervisar la respuesta inmune antitumoral. Las células dendríticas son células que presentan antígenos a los linfocitos T y B estimulados. Se ha demostrado "*in vitro*" que VEGF impide la maduración funcional de estas células desde sus precursores hematopoyéticos, inhibiendo por tanto su función inmunológica ^{278, 281}.

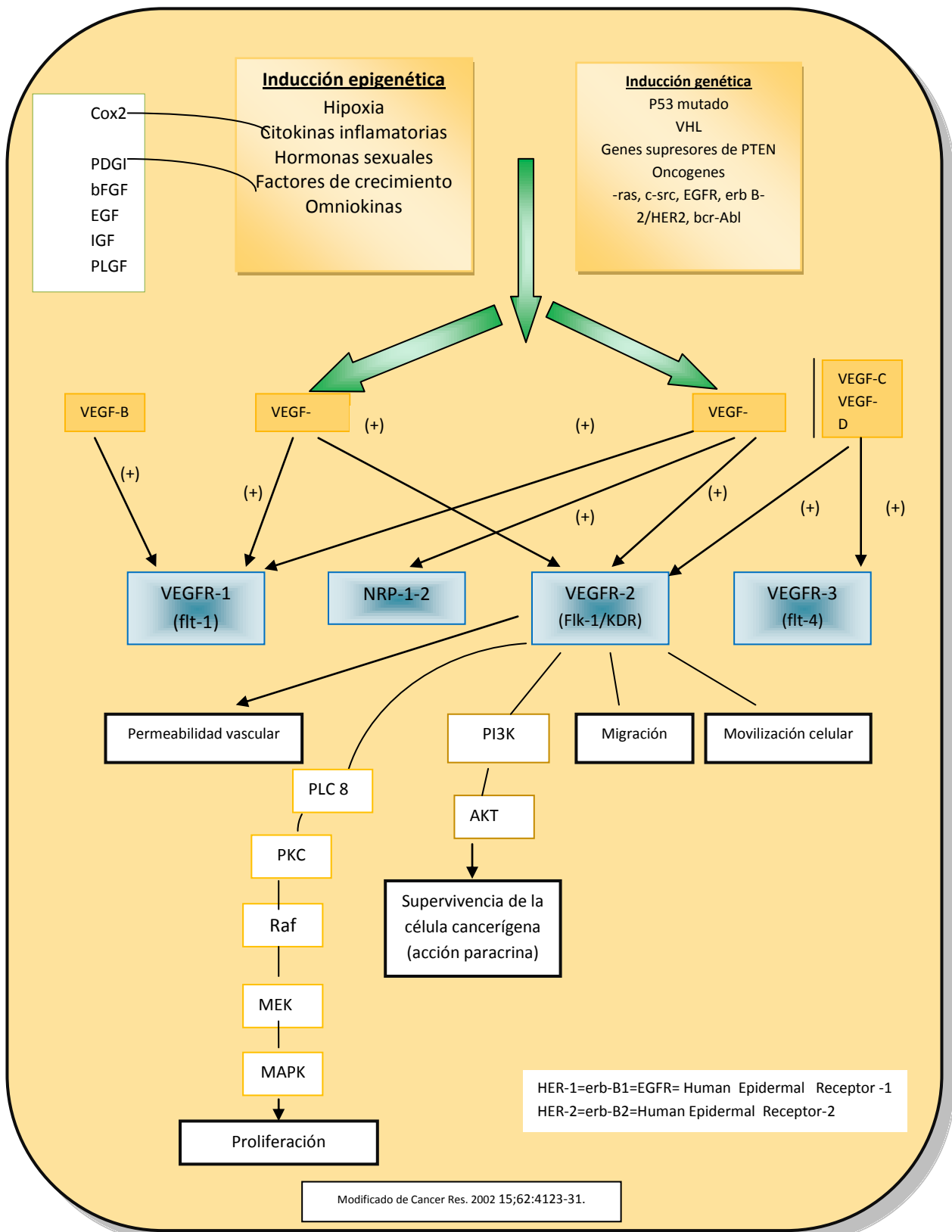


Fig. 22. Interacciones entre las diferentes isoformas de VEGF y los distintos receptores y cascadas activadas.

Las funciones del VEGF se resumen en la figura 23.

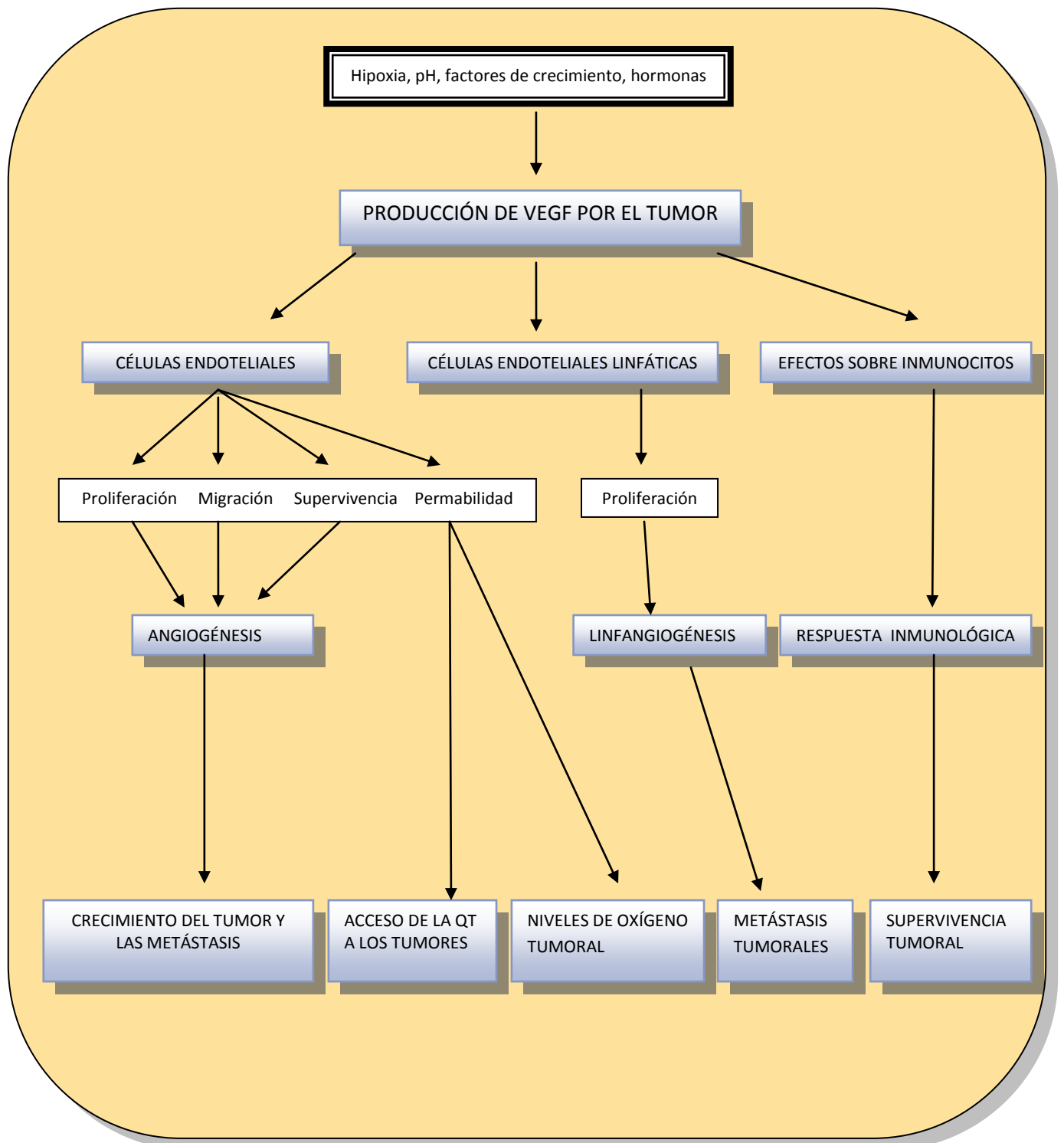


Fig. 23. Función de VEGF en el proceso oncogénico.

6.8 DENSIDAD MICROVASCULAR (DMV).

La cuantificación de los procesos de angiogénesis tumoral puede ser un marcador pronóstico ^{282, 283}. Se han descrito múltiples variantes dependiendo de la proteína utilizada para el marcaje de los vasos neoformados, de tal forma que se han utilizado como marcadores de las células endoteliales el factor VIII, CD34, CD31 y la endogлина entre otros ^{282, 283, 284, 285}. Su valor ha sido demostrado en tumores en estadios avanzados y con evolución desfavorable en pulmón, vejiga y próstata, pero en el CCR los datos existentes son contradictorios, de tal forma que CCR agresivos pueden o no marcar valores altos de DMV ^{286, 287, 288}. Es posible que la DMV cuantifique más un aumento de demanda metabólica y no un aumento de actividad angiogénica. Se ha identificado 2 diferentes tipos de microvasos en el CCR, unos más indiferenciados que marcan CD31+/CD34- y otros diferenciados (CD31+/CD34+). Se ha postulado que una alta DMV de vasos indiferenciados se asociaría a tumores de indiferenciados y peor supervivencia ²⁸⁹.

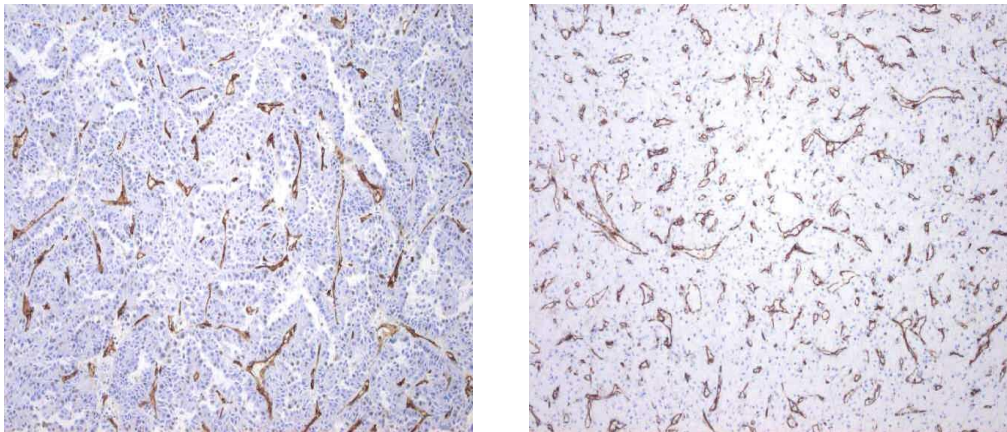


Fig. 24. Tejido tumoral con alta densidad microvascular (Tinción para CD31. 10x).

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1.1. HIPÓTESIS.

El CCR, con una incidencia anual de 4,5-5/100.000 habitantes, es la enfermedad oncológica del aparato urinario más letal. En las últimas décadas ha aumentado la incidencia del CCR siendo diagnosticados mayoritariamente en estadios T₁-T₂ y, por lo tanto, tributarios de ser tratados con intención curativa mediante cirugía. A pesar de ello, la tasa de mortalidad específica no se ha modificado y cada vez es más evidente que en una subpoblación de carcinomas confinados en el riñón el tratamiento quirúrgico no es suficiente para controlar la enfermedad y se muestra la necesidad de estrategias multimodales. Los factores pronósticos convencionales, clínicos y patológicos, se han mostrado insuficientes para definir la categoría de carcinomas renales que precisarán de acciones terapéuticas adyuvantes a la cirugía.

Los importantes avances en el conocimiento de la biología del CCR han permitido identificar moléculas que se relacionan con la carcinogénesis y la progresión de este tumor. El desarrollo de anticuerpos para estas moléculas hace posible determinar su expresión tumoral.

Nuestra hipótesis de trabajo se basa en que el perfil molecular definido con la inmunoexpresión de moléculas implicadas en la carcinogénesis y progresión del CCR tratado con intención curativa mediante cirugía, sirva de forma aislada o asociado a factores pronósticos conocidos para predecir la progresión y por lo tanto para definir categorías tumorales tributarias de estrategias terapéuticas multimodales.

1.2. OBJETIVOS

I. Determinar en el CCR tratados mediante cirugía, el valor predictivo de pronóstico del perfil molecular definido por la expresión de:

- Anhidrasa carbónica IX (CAIX).
- Factor de crecimiento vascular del endotelio (VEGF).
- PTEN.
- P-AKT.
- CD31 como marcador de densidad microvascular.
- Ki67.
- Bcl2.

II. Determinar en el CCR tratados mediante cirugía, el valor predictivo de pronóstico del perfil patológico tumoral.

III. Valorar en el CCR tratados la relación entre factores pronósticos patológicos y moleculares.

MATERIAL Y MÉTODO

II MATERIAL Y MÉTODO.

1. MUESTRA.

Estudio de cohortes clínica retrospectiva realizado en 148 muestras de carcinoma de células renales sometidos a cirugía con intención curativa en el Servicio de Urología del Hospital Universitario Príncipe de Asturias de Alcalá de Henares (Madrid) entre enero de 1989 y diciembre de 2006.

El diagnóstico se llevó a cabo mediante pruebas de imagen, ecografía o urografía intravenosa en algunos pacientes, confirmándose la presencia de la tumoración mediante tomografía axial computerizada o resonancia magnética en pacientes con alergias a contrastes yodados. El estudio de extensión se realizó mediante el mencionado TAC y radiografía simple de tórax.

El único tratamiento al diagnóstico consistió en la cirugía mediante nefrectomía radical o con cirugía conservadora (tumorectomía o nefrectomía parcial) cuando existía indicación de la misma, la indicación de esta fue en tumores menores de 4 centímetros, tumores múltiples, ausencia anatómica o funcional de riñón contralateral que pudiera poner en riesgo ese riñón posteriormente o presencia de insuficiencia renal en el momento del diagnóstico. Se realizó linfadenectomía hiliar simple en el mismo acto quirúrgico.

El estudio histopatológico permitió la clasificación tumoral según las normas TNM de 2002 y su gradación según la clasificación de Fuhrman.

El seguimiento se llevó a cabo mediante pruebas de imagen, TAC y ecografía alternantes de forma periódica, radiografía simple de tórax y parámetros

bioquímicos para control de la función renal, bioquímica hepática y fosfatasa alcalina para descartar afectación ósea. Sólo se realizaron pruebas específicas como gammagrafía ósea o TAC craneal si existía sospecha clínica, bioquímica o de otro tipo de afectación metastásica.

2. VARIABLES CLÍNICAS.

- **Edad:** Se considera la edad del paciente en el momento de la intervención quirúrgica.
- **Estadio Clínico:** Se incluyeron los pacientes en cualquier estadio clínico, metastásico o no, T₁₋₄, N₀₋₂, M₀₋₁ según la clasificación TNM de 2002. Los estadios M₁ incluidos son aquellos en los que se realizó cirugía de las metástasis existentes. Se excluyeron los casos en estadio M₁ en el estudio estadístico para el cálculo de tiempo libre de enfermedad.
- **Expresión clínica al diagnóstico:** Se considera la categoría de carcinoma incidental sin expresión clínica derivada del tumor y carcinoma sintomático, con síntomas derivados del tumor.
- **Evolución:** El seguimiento se hace con pruebas de imagen, radiografía de tórax, TAC abdominopélvico y se considera la recidiva-metástasis, sobre los datos específicos obtenidos con estas pruebas.

3. ESTUDIO PATOLÓGICO.

La valoración histológica fue realizada en todos los casos por el mismo patólogo (Dra. A. Blasco Martínez), reevaluando las preparaciones que previamente podían haber sido valoradas por otros patólogos. Se clasificaron las muestras de acuerdo a la clasificación TNM patológica de la UICC de 2002 si previamente se habían estadificado con versiones previas y se hizo el

diagnóstico histológico de los tumores según la clasificación de la OMS de 2004. En el estadio patológico se valora:

- Extensión tumoral (pT).
- Colonización linfática parahiliar.
- Tipo histológico (OMS).
- Grado de diferenciación (Fuhrman)
- Densidad microvascular.

El estudio inmunohistoquímico se llevó a cabo mediante técnicas de TMA (*tissue microarrays*).

4. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO.

4.1 CONSTRUCCIÓN DE LA MATRIZ DE TEJIDOS.

En cada tumor se seleccionaron dos zonas diferentes en el bloque de tejido (bloque donante). Por medio del "tissue arrayer" (Beecher Instruments, Silver Spring, MD, EE.UU.) se procedió a extraer un cilindro de tejido tumoral de 1 mm de diámetro de cada zona marcada. Estos cilindros tisulares se dispusieron ordenadamente en un bloque de parafina vacío (bloque receptor). A partir de este bloque se obtuvieron las secciones tisulares de 4µm sobre las que se realizaron las técnicas de inmunohistoquímica.

4.2 ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DE LA EXPRESIÓN PROTEICA.

Se realizó mediante el sistema de visualización Envision Dual-Link (Dako) utilizando anticuerpos monoclonales de ratón o policlonales de conejo frente a la serie de anticuerpos establecida. Brevemente, tras la desparafinización e hidratación de los tejidos en una serie de alcoholes decrecientes hasta el agua

destilada se procedió a la inhibición de la peroxidasa endógena durante 10 minutos. A continuación, las muestras se lavaron con agua destilada y se realizó el desenmascaramiento antigénico con EDTA a 150° C durante 45 minutos. Posteriormente, las muestras se lavaron de nuevo en agua destilada y a continuación en tampón Tris pH=7,4 a temperatura ambiente. Se realizó la incubación con el anticuerpo primario. Las muestras se lavaron en tampón Tris pH=7,4 y se añadió el anticuerpo secundario conjugado. Por último, las muestra se lavaron en tampón Tris pH=7,4 y se revelaron mediante la aplicación del cromógeno diaminobencidina, durante 5 minutos. Con el fin de visualizar los núcleos, se realizó contratinción con hematoxilina. Este procedimiento se realizó utilizando el inmunoteñidor automático Techmate500 (Dako).

Para el estudio inmunohistoquímico, se empleó la siguiente batería de anticuerpos:

PTEN: Novocastra, clon 28H6, dil. 1:500.

pAKT: Abcam pcl, policlonal de conejo frente a AKT1, phospho T308, dil. 1:50.

VEGF : Dako, anticuerpo monoclonal de ratón clon VG1, dil. 1:25.

CAIX: Abcam pcl, policlonal de conejo, dil. 1:1000.

Bcl-2: Dako, clon 124, dil. 1:50.

Ki67: Dako, clon MIB1, dil.: 1:100.

DMV: CD31 endothelial cell, clon JC7OA, Dako, monoclonal, prediluido.

4.3 MEDIDA DE LA EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA.

- CAIX: Se valora la expresión de membrana, objetivando el porcentaje de células que expresan el marcador. El punto de corte discriminativo es el 50%, de tal forma que se considera negativo si menos del 50% de las células lo expresan, y positivo en caso contrario.

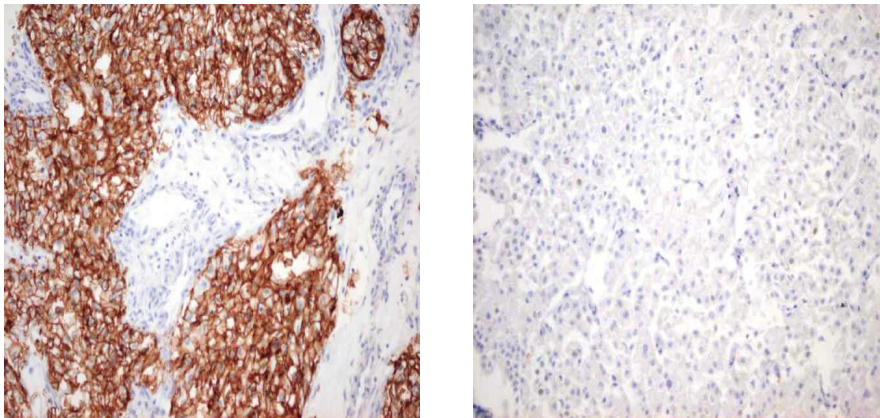


Fig. 25. Tinción positiva para CAIX frente a no expresión del marcador (20x).

- VEGF: Se valora la expresión citoplásmica, objetivando la intensidad de la tinción en al menos el 50% de la celularidad. Se considera negativa cuando menos del 50% de las células se tiñen.

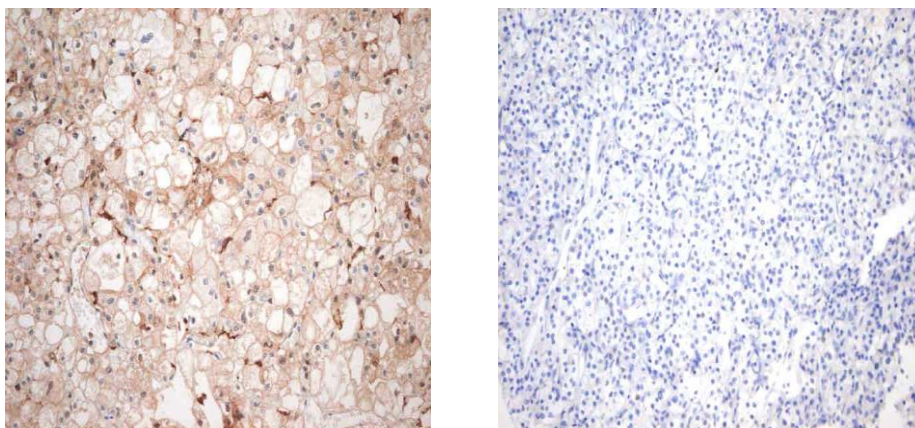


Fig. 26. Tinción positiva para VEGF frente a no expresión del marcador (20x).

- DMV: La valoración de la densidad microvascular se realizó en cada caso sobre las áreas de inmunotinción para CD31 más intensa ("*hot spots*"), es decir en las zonas con mayor microvascularización. En estas zonas se contaron el nº de estructuras microvasculares por campo de gran aumento (objetivo 40x), en tres campos y luego se hizo la media. La unidad de medida sería por lo tanto el número de estructuras microvasculares por campo de gran aumento. Se contabilizaron individualmente los vasos claramente delimitados unos de otros. Las imágenes de vasos sinusoidales y anastomosados con ramificaciones se contabilizaron como un único vaso. No se consideró necesaria la presencia de una luz vascular definida para contabilizar un vaso. Las células endoteliales aisladas intensamente teñidas también fueron incluidas en el recuento. Se tomó como punto de corte para el estudio estadístico la mediana de los valores obtenidos, siendo ésta de 42.5.

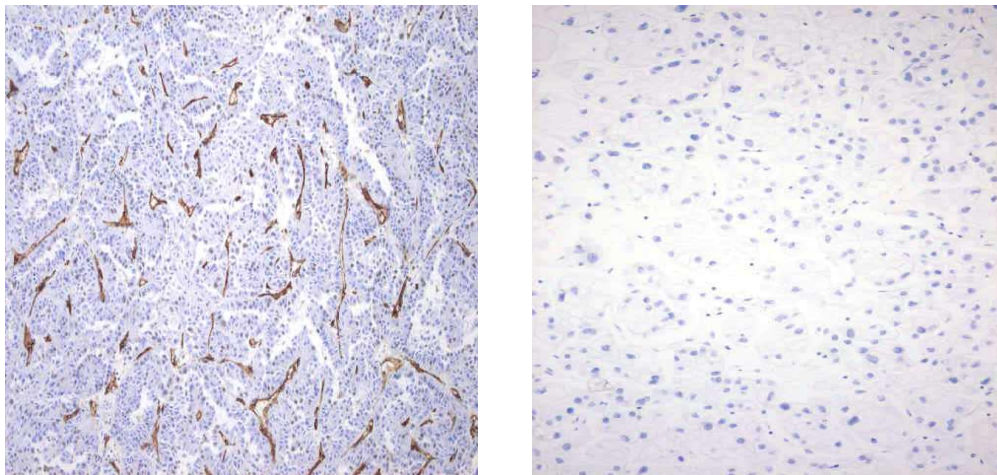


Fig. 27. Tinción positiva para CD 31 frente a no expresión del marcador (20x).

- Ki67: Se valora la expresión nuclear. El punto de corte estimado para considerarlas positivas se fijó en el 20% de los núcleos de la muestra. Se considera negativa cuando menos del 20% de las células expresan el marcador y positivo en caso contrario.

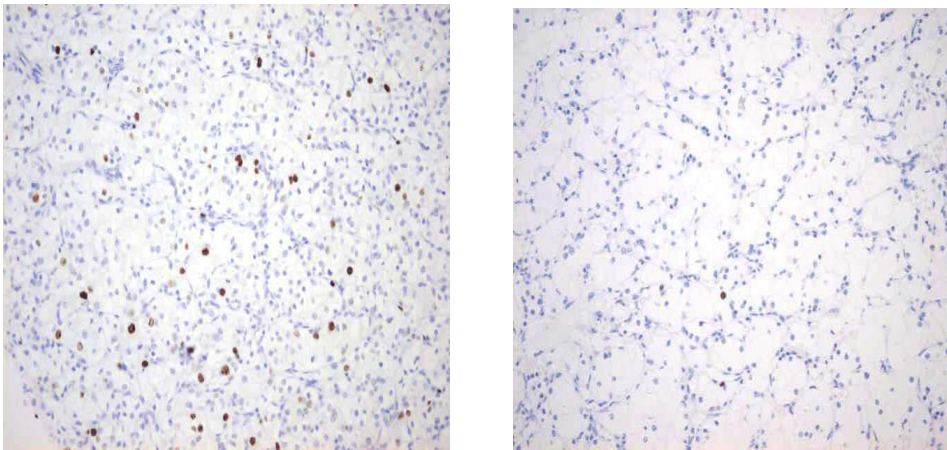


Fig. 28. Tinción positiva para Ki67 frente a no expresión del marcador (20x)

- Bcl-2: Se valora su expresión, objetivando el porcentaje de células que expresan el marcador. El punto de corte discriminativo es el 10%, de tal forma que se considera positivo si al menos este porcentaje de las células lo expresan, y negativo en caso contrario.

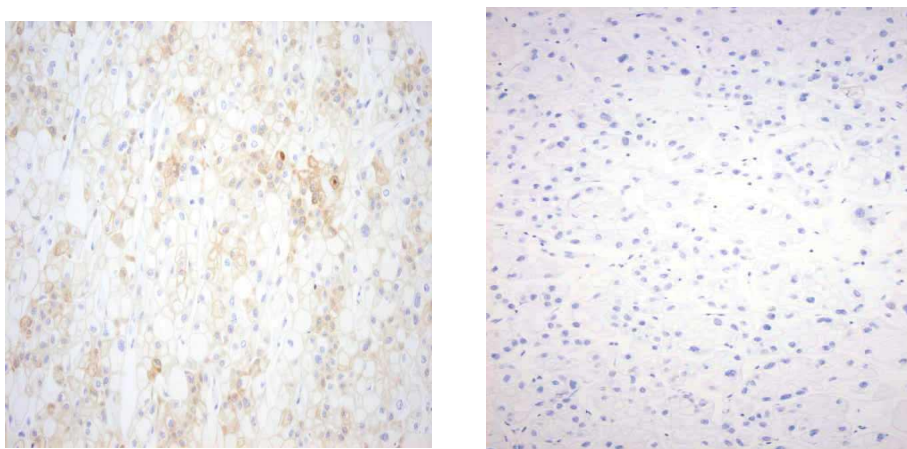


Fig. 29. Tinción positiva para bcl-2 frente a no expresión del marcador (20x)

5. ESTUDIO ESTADÍSTICO

Las variables cualitativas se presentan con su distribución de frecuencias. Las variables cuantitativas se resumen en su media y desviación estándar (DE) o su mediana y rango intercuartílico (p25-p75).

Se evaluó la asociación entre variables cualitativas con el test de χ^2 o prueba exacta de Fisher, en el caso de que más de un 25% de los esperados fueran menores de 5.

Se compararon las variables cuantitativas mediante el test de la t de Student (en comparaciones de una variable con dos categorías) y las medianas con el test no paramétrico de la mediana.

En todos los casos se comprobó la distribución de la variable frente a los modelos teóricos y se contrastó la hipótesis de homogeneidad de variancias.

Se estimaron las funciones de supervivencia por el método de Kaplan-Meier para las variables independientes para el estudio de los eventos: muerte y recidiva. Se presentan las gráficas de las curvas estimadas. La comparación de las funciones de supervivencia de los distintos subgrupos se realizó mediante el test exacto de Breslow. Consiste en comparar el número de eventos observados en cada uno de los subgrupos con el número de eventos esperados en el caso de que la distribución de la variable dependiente fuera la misma en todas las categorías (hipótesis nula).

Se ajustó un modelo de regresión de riesgos proporcionales de Cox. Este modelo permite identificar y evaluar la relación entre un conjunto de variables explicativas y el tiempo de ocurrencia de un evento (muerte y recidiva) y también predecir el tiempo de supervivencia de un determinado sujeto a partir de los valores que toma en las variables explicativas o pronósticas.

$$h(t; X) = h_0(t) * e^{\beta'X} = h_0(t) * e^{\beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \dots + \beta_p x_p}$$

$h(t; X)$

Tasa de riesgo de un sujeto, con valores $X=(x_1; x_2; \dots; x_p)$ en las variables explicativas, en el instante t . Es la variable respuesta que se modeliza. Representa el riesgo de fallecer (o recaer) en el instante t , de los sujetos que tienen un determinado patrón de valores x en las variables explicativas.

$e^{\beta'X}$

Función exponencial, cuyo exponente es la combinación lineal, sin término constante, de las p variables explicativas X_i

$h_0(t)$

Función de riesgo de referencia (“baseline” o “underlying hazard function”), que sólo depende del tiempo, llamada así porque representa las tasas instantáneas de riesgo de un sujeto hipotético con valor 0 en todas las variables predictivas.

Se evaluó la existencia de interacciones, introduciendo las variables independientes multiplicativas con pruebas de significación estadística y se mantienen en el modelo los términos de interacción estadísticamente significativos. Se presentan los “riesgos relativos” ajustados junto a sus intervalos de confianza al 95%. La interpretación de los parámetros del modelo con signos positivos indican un aumento de la tasa instantánea de riesgo, es decir, un peor pronóstico del sujeto para un valor alto de la variable x . Un parámetro β con signo negativo indica mejor pronóstico para un valor alto en la variable x . La contribución de una variable x se valora con el exponente e^{β} , que es el factor por el cual se multiplica la tasa de riesgo instantáneo de un sujeto cuando la variable x se incrementa en una unidad. Este exponente se interpreta como el riesgo relativo en el instante t de los sujetos. En variables dicotómicas es pasar de la ausencia (0) a la presencia (1) del factor x . En variables cuantitativas el incremento lineal de la tasa

de riesgo cuando se incrementa la variable x en una unidad. Este aumento es proporcional en todos los valores que toma la variable. Por ejemplo la edad, el incremento o decremento es igual de pasar de 34 a 35 años que de 50 a 51 o de 67 a 68 años. En variables policotómicas (más de dos categorías) una categoría se toma como referencia y por lo tanto el RR es de 1. El resto de las categorías se comparan frente a la de referencia.

Los supuestos básicos que deben de cumplir los datos para poder aplicar dicho modelo son sobre todo de la parte paramétrica ya que la contribución de las diferentes variables explicativas en la predicción de la supervivencia, o más precisamente, de la tasa instantánea de riesgo, es la misma en cualquier momento de tiempo de seguimiento. La parte no paramétrica del modelo no impone ningún supuesto sobre la forma de distribución de los tiempos de supervivencia.

Se realizó un análisis estratificado para evaluar la modificación de efectos de las variables clínicas y los marcadores tumorales.

En todos los contrastes de hipótesis se rechazó la hipótesis nula con un error de tipo I o error α menor a 0,05.

El paquete informático utilizado para el análisis fue SPSS para Windows versión 15.0.

RESULTADOS

III RESULTADOS.

1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO.

1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES.

La serie objeto de estudio está constituida por 145 pacientes diagnosticados de adenocarcinoma renal en cualquiera de sus variantes. Para el cálculo de supervivencia se tuvieron en cuenta la totalidad de los tumores en cualquiera de los estadios. Para el cálculo de los intervalos libre de enfermedad se eliminaron los estadios M1. El diagnóstico se realizó por sintomatología relacionada con el tumor o como hallazgo incidental por pruebas realizadas por otros motivos. Se incluyeron un total de 148 tumores.

Todos los pacientes fueron sometidos a tratamiento quirúrgico mediante nefrectomía radical o parcial/tumorectomía en casos indicados, entre enero de 1989 y diciembre de 2006

1.2. CLÍNICA AL DIAGNÓSTICO.

En 64 tumores (43,2%) el paciente fue diagnosticado por su sintomatología clínica derivada del tumor. 84 tumores (56,8%) se diagnosticaron de forma incidental.

Tabla 11. *Clínica al diagnóstico*

Clínica al diagnóstico	N (%)
Asintomáticos	84 (56,8)
Sintomáticos	64 (43,2)
Dolor	29 (19,6)
Hematuria	36 (24,3)
Pérdida de peso	10 (6,8)

1.3. EDAD.

La edad media de la serie fue de 58,84 años (rango: 23-83); la mediana fue de 60,0 años.

1.4. SEXO.

La distribución por sexos de los pacientes diagnosticados se conforma de la siguiente forma: 96 tumores correspondían a pacientes varones (64,9%) y 52 a mujeres (35,1%) por lo que la proporción hombre:mujer en nuestra serie es de 1.8:1.

1.5. SITUACIÓN.

En el riñón derecho se diagnosticaron 74 tumores (50,0%), 72 sobre el riñón izquierdo (48,6%) y 2 tumores eran bilaterales (1,4%).

1.6. ESTADIO TUMORAL (pT).

El estadio patológico de los tumores fue T_{1a} en el 24,3%, T_{1b} en el 27,7%, 12 en el 19,6%, T_{3a} en el 18,9%, T_{3b} en 6,8%. No se diagnosticó ningún pT_{3c} y el 2,8% fueron pT₄. La distribución por estadio se muestra en la Figura 30.

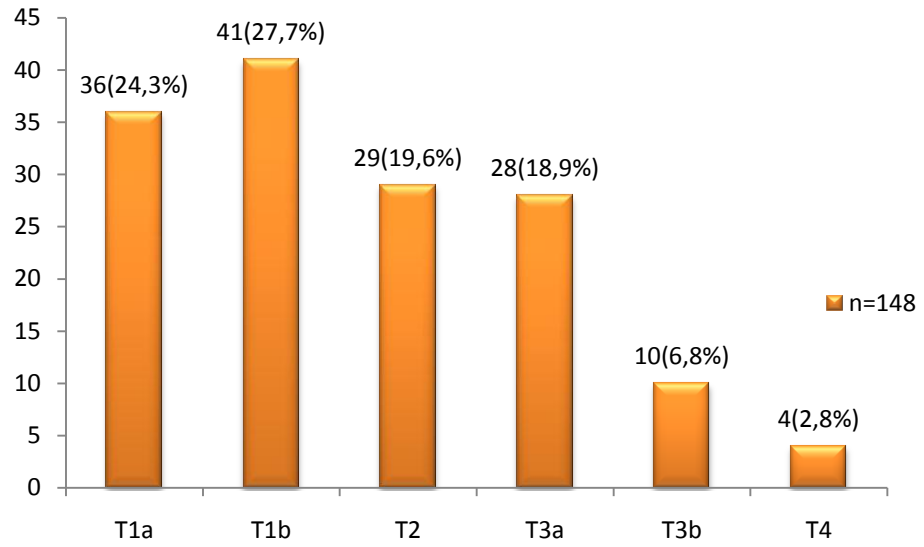


Fig. 30. *Distribución por estadio patológico (pT).*

1.7. ESTADIO GANGLIONAR (pN)

El estadio patológico post-cirugía fue pN0 en 139 pacientes (93,9%), pN1 en 5 (3,4%) y pN2 en 4 (2,7%). (Fig. 31)

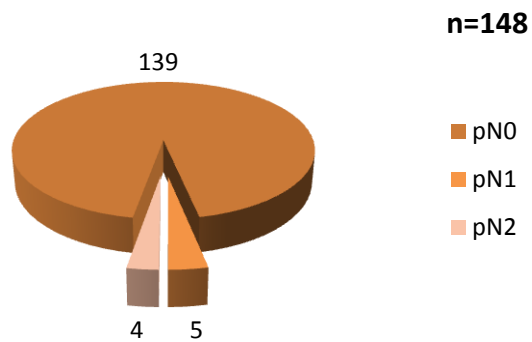


Fig. 31. *Distribución por estadio ganglionar (pN).*

1.8. GRADO NUCLEAR.

En la valoración histopatológica del tumor se utiliza la clasificación de Fuhrman. La distribución de los tumores según el grado se refleja en la Figura 32. El 61,4% se consideran de bajo grado (G_1+G_2) y el 38,6% de alto (G_3+G_4).

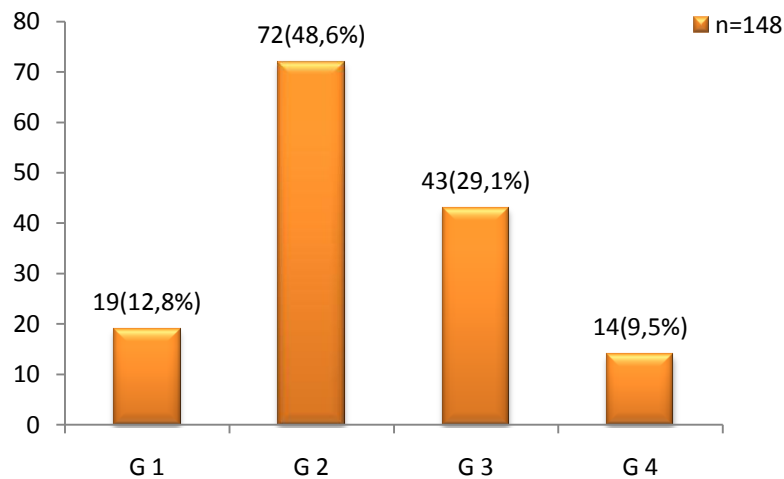


Fig. 32. *Distribución por grado nuclear.*

1.9. TIPO HISTOLÓGICO.

La distribución de los tumores según el tipo histológico se refleja en la Figura 33. No se diagnosticó ningún carcinoma de conductos colectores.

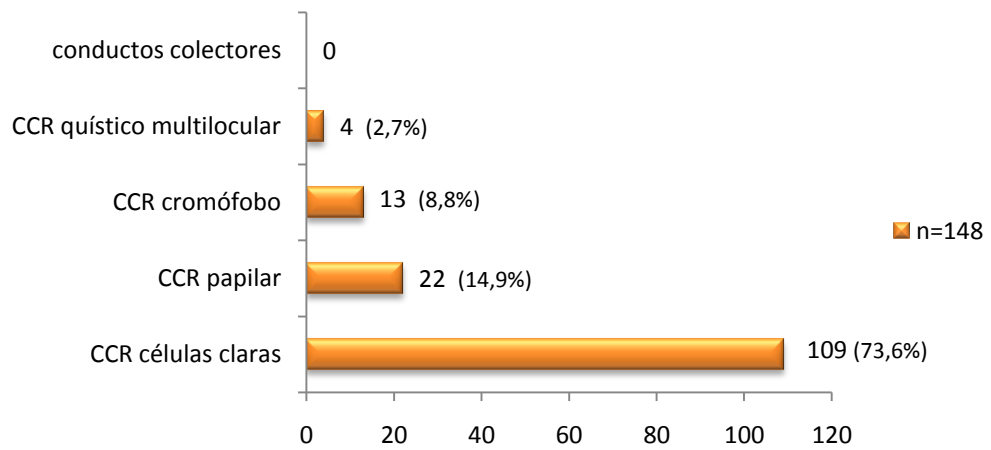


Fig. 33. **Distribución por tipo histológico**

1.10. INMUNOEXPRESIÓN DE CAIX

La valoración de la inmunexpresión de anhidrasa carbónica IX (CAIX) se realizó en 138 tumores, en 90 de ellos la expresión se consideró positiva, en 48 negativa; en 10 tumores no fue posible o valorable la tinción. Según la intensidad de la expresión en la tinción se obtuvieron los siguientes resultados, reflejados en la figura 34.

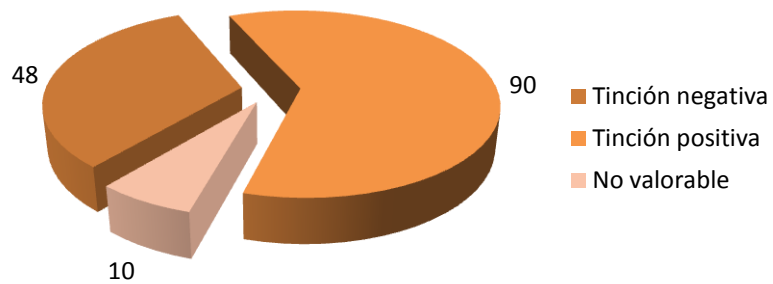


Fig. 34. - **Distribución según expresión de CAIX**

1.11. INMUNOEXPRESIÓN DE VEGF.

La valoración de la inmunexpresión del factor de crecimiento vascular del endotelio se consiguió en 134 tumores, no siendo posible la realización en 11 tumores. Se objetiva la expresión citoplasmática del marcador, teniendo en cuenta la intensidad de la tinción. La distribución se refleja en la figura 35.

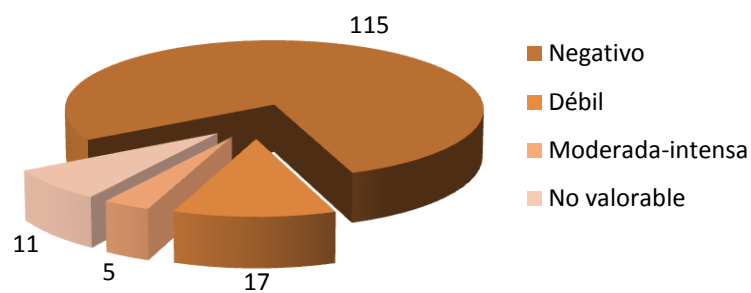


Fig. 35. Distribución según expresión de VEGF.

1.12. INMUNOEXPRESIÓN DE PTEN.

La valoración de inmunexpresión de PTEN se realizó en 139 tumores, no siendo posible la realización en 9 de los 148. Se ha cuantificado el porcentaje de células que expresan el marcador, la intensidad de la expresión y la expresión de PTEN a nivel citoplasmático. La figura 36 muestra el porcentaje de células tumorales que expresan PTEN.

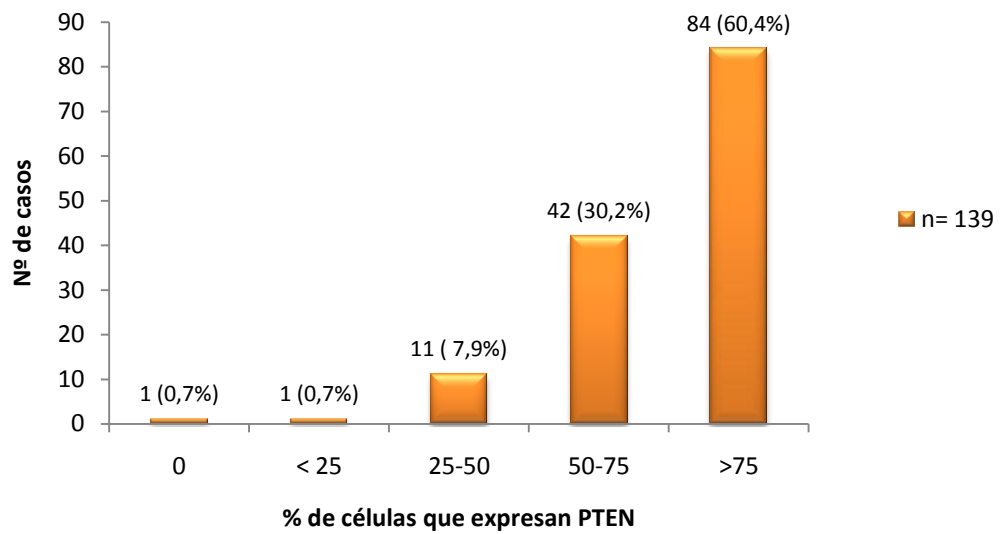


Fig. 36. *Distribución de porcentaje de células que expresan PTEN*

Se ha valorado la intensidad de la inmunoexpresión de PTEN en las células que lo expresan. La distribución se muestra en la Figura 37. Los porcentajes se expresan sobre el total de pacientes valorables para el estudio.

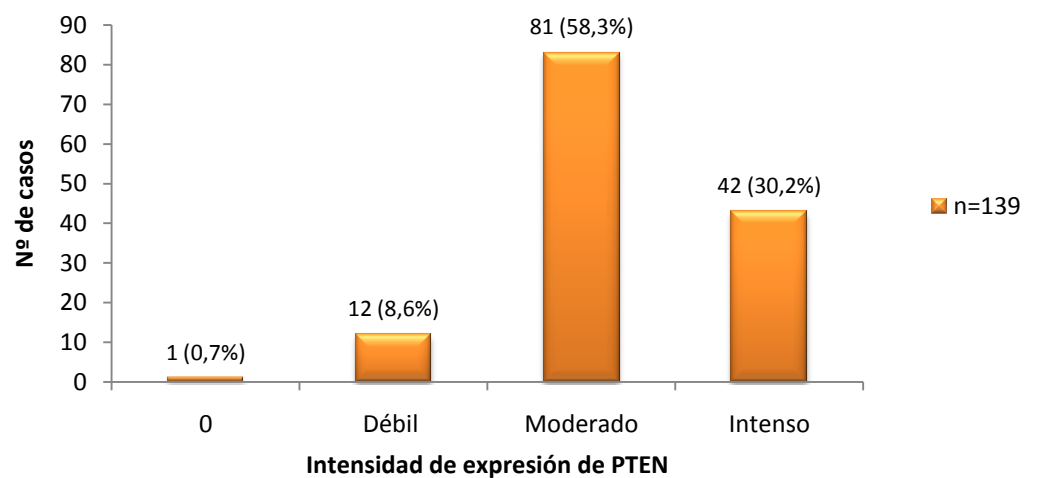


Fig. 37. *Distribución según intensidad de expresión de PTEN.*

La expresión de PTEN citoplasmático es positiva en 31 de las 139 muestras (22,3%) y negativa en 108 (77,7%).

1.13. INMUNOEXPRESIÓN DE P-AKT.

La valoración de inmunoexpresión de P-AKT fue posible en 141 de los 148 tumores estudiados; cuando valoramos el grado de intensidad con el que las células tumorales expresan el marcador obtenemos los siguientes datos, que se muestran en la figura 38.

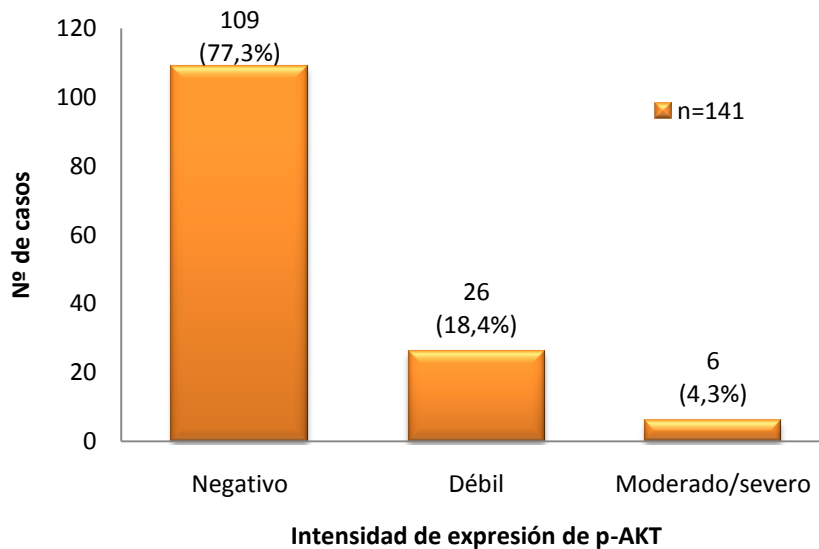


Fig. 38. Distribución según intensidad de expresión de p-AKT.

Si valoramos el porcentaje de células que expresan el marcador en cada uno de los tumores obtenemos los resultados que se reflejan en la figura 39.

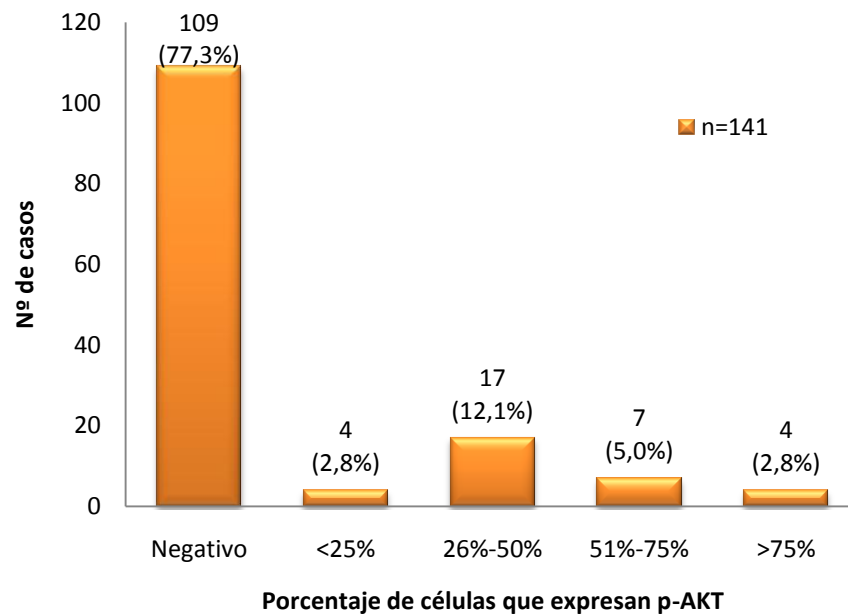


Fig. 39. Distribución de porcentaje de células que expresa p-AKT.

1.14. DENSIDAD MICROVASCULAR.

Para realizar la valoración pronóstica de la densidad microvascular, se tomó una muestra representativa de 40 tumores. Se obtuvo una media de 49,05 con D.E de 29,87 (rango 10,6-140,0).

1.15. INMUNOEXPRESIÓN Ki67

La valoración de la expresión de Ki67 se pudo completar en 138 muestras; 10 muestras no fueron aptas para su análisis. De esta forma, 127 tumores (92%) se consideraron negativos y 11 (8%) positivos para este marcador.

1.16. INMUNOEXPRESIÓN DE BCL-2.

En 138 de las 148 muestras se pudo valorar la expresión tisular de bcl-2. En 39 casos (28,2%) se consideró positiva y en 99 (71,8%) fue negativa.

1.17. SEGUIMIENTO.

El tiempo de seguimiento medio desde el tratamiento quirúrgico hasta el momento de cerrar el estudio fue de 67,07 meses (S.E: 44,32) con una mediana de 64,90, rango 3-165,60 meses.

2. ESTADÍSTICA ANALÍTICA.

2.1. SUPERVIVENCIA.

Calculamos la supervivencia en nuestra serie a los 6, 18, 36 y 72 meses. Se muestran los resultados en la Tabla 12. Mantenemos para el cálculo de la supervivencia 2 pacientes que fueron intervenidos en estadio M1 con cirugía de las metástasis. No obstante, estos 3 pacientes no son computados para el cálculo de los intervalos libres de enfermedad en los siguientes apartados.

El porcentaje de supervivencia a los 6, 18, 36 y 72 meses es del 95,8%, 88,5%, 83,8% y 78,4% respectivamente.

Tabla 12. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses.

6 meses	18 meses	36 meses	72 meses
n	n	n	n
Pr (EE)	Pr (EE)	Pr (EE)	Pr (EE)
134	118	90	56
95,8% (1,7)	88,5% (2,7)	83,8% (3,2)	78,4% (3,8)

En los siguientes apartados se calculan las probabilidades de supervivencia en nuestra serie en función de las diferentes variables clínicas y de la expresión de los distintos marcadores, realizándose análisis univariante de los mismos.

2.2. SEXO.

No encontramos diferencias significativas en la supervivencia de los pacientes con diagnóstico de CCR en función del sexo ($p=0.89$). (Tabla 13).

Tabla 13. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor sexo.

Marcador	6 meses	18 meses	36 meses	72 meses	P	HR
Sexo	n	n	n	n		(IC) 95%
	Pr (EE)	Pr(EE)	Pr(EE)	Pr(EE)		
Varón	87	76	56	35		1
	95,7% (2,1)	87,9% (3,4)	82,9% (4,0)	81,0% (4,4)		
Mujer	47	42	34	21	0,94	1,03
	96,0%(2,8)	89,9%(4,3)	85,5%(5,1)	74,6%(6,8)		(0,49-2,15)

2.3. EDAD.

En nuestra serie podemos apreciar una diferencia de comportamiento en función de la edad del paciente. Tomando como punto de corte 60 años, la supervivencia

es mayor de forma significativa en los pacientes menores de esta edad. (Tabla 14).

Tabla 14. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor edad.

Marcador Edad	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr(EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
≥ 60 años	60 97,0% (2,1)	59 87,5% (4,1)	43 80,7% (5,0)	24 71,4% (6,3)	0,04	2,21 (1,06-4,46)
< 60 años	72 94,8%(2,5)	63 89,4%(3,5)	47 86,5%(4,0)	32 84,6%(4,3)		1

2.4. EXPRESIÓN CLÍNICA.

Encontramos una tendencia a un mejor comportamiento en cuanto a supervivencia, aunque sin llegar a tener significación estadística en aquellos tumores cuyo diagnóstico se realiza de forma incidental con respecto a los sintomáticos en el momento del diagnóstico. (Tabla 15)

Tabla 15. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor sintomatología al diagnóstico.

Marcador Síntomas al diagnóstico	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
Sintomático	58 95,2% (2,7)	49 86,9% (4,3)	39 78,0% (5,4)	26 71,4% (6,2)	0,053	2,05 (0,99-4,22)
Incidental	76 96,3%(2,1)	69 89,9%(3,4)	51 88,3%(3,7)	30 84,2%(4,5)		1

2.5. ESTADIO pT.

Encontramos una clara significación estadística en la supervivencia de los pacientes con CCR en función del estadio patológico asignado según la clasificación TNM ($p < 0.001$). Se presentan los datos en la tabla 16 por estadios y agrupamos aquellos que tienen un comportamiento similar con el fin de aumentar la potencia estadística.

Tabla 16. **Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor estadio pT y pT agrupados.**

Marcador pT	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
T1a	36 100%	34 100%	28 100%	13 100%		1
T1b	41 100%	36 94,9%(3,5)	27 91,9%(4,5)	17 87,3%(6,2)	0,88	21158,12 Indeter.
T2	24 88,9%(6,0)	20 85,2%(6,8)	15 80,9%(7,7)	11 69,4%(10,0)	0,88	63146,97 Indeter.
T3a	25 96,4%(3,5)	20 77,1%(8,2)	15 73,3%(8,75)	13 73,3%(8,7)	0,88	87172,02 Indeter.
T3b	10 100%	7 77,8%(13,9)	5 55,6%(16,6)	2 33,3%(15,7)	0,87	223996,12 Indeter.
T4	1 33,3%(27,2)	1 33,3%(27,2)	0 0%	(-)	0,86	682998,59 Indeter.
T1	77 100%	70 97,3%(1,9)	55 95,8%(2,4)	30 93,5%(3,2)		1
T2	24 88,9%(6,0)	20 85,2%(6,8)	15 80,9%(7,7)	11 69,4%(10,0)	0,006	5,66 (1,66-19,38)
T3a	25 96,4%(3,5)	20 77,1%(8,2)	15 73,35%(8,7)	13 73,3%(8,7)	0,001	7,82 (2,45-24,95)
>T3a	11 83,3%(10,8)	8 66,7%(13,6)	5 41,7%(14,2)	2 25,0%(12,5)	<0,001	25,06 (7,77-80,77)

2.6. ESTADIO pN.

Hallamos en esta variable una supervivencia diferente según el estadio, de tal forma que los tumores en estadio N0 tienen una supervivencia mayor que los N1 y N2. El comportamiento de los N2 es claramente diferente de los N0 y N1 en cualquiera de los tiempos observados ($p < 0,001$). (Tabla 17).

Tabla 17. *Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor estadio pN.*

Marcador pN	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
N0	129 97,8%(1,3)	114 90,8%(2,5)	86 85,8%(3,1)	52 80,0%(3,9)		1
N1	3 75,0%(21,7)	3 75,0%(21,7)	3 75,0%(21,7)	3 75,0%(21,7)	0,9	1,14 (0,15-8,44)
N2	2 50%(25,0)	1 25%(21,7)	1 25%(21,7)	1 25%(21,7)	0,001	8,27 (2,47-27,71)

2.7. TIPO HISTOLÓGICO.

La supervivencia en nuestra serie no varía en función del tipo histológico tumoral, si bien el número de tumores en algunos tipos histológicos es bajo ($p=0,15$). Existe una tendencia en los tumores de tipo papilar a tener una probabilidad menor de supervivencia a 72 meses si bien no logra alcanzar significación estadística. El resto de tipos histológicos se comportan de forma similar al de células claras desde el punto de vista estadístico con supervivencias a 72 meses en los cromóforos y en los quísticos multiloculares del 100%. (Tabla 18.)

Tabla 18. Supervivencia a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor tipo histológico.

Marcador Tipo Histológico	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
Células Claras	99 96,2%(1,8)	86 87,4%(3,3)	67 82,0%(3,8)	46 79,0%(4,3)		1
Papilar	20 90,9%(6,1)	18 86,4%(7,3)	12 81,3%(8,5)	3 55,4%(14,1)	0,09	2,03 (0,90-4,56)
Cromóforo	11 100%(-)	9 100%(-)	8 100%(-)	3 100%(-)	0,98	Indeterminado
Quístico Multilocular	4 100%(-)	4 100%(-)	4 100%(-)	4 100%(-)	0,99	Indeterminado

2.8. GRADO NUCLEAR.

La supervivencia en nuestra serie es proporcional inversamente al grado nuclear, de forma estadísticamente significativa ($p < 0,001$), de forma que la supervivencia es mayor en los tumores de menor grado, asimismo, observamos que al agrupar tumores de alto (grado 3 y 4) y bajo grado (grado 1 y 2), obtenemos análogos resultados con mayor potencia estadística. (Tabla 19).

Tabla 19. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor grado nuclear.

Marcador Grado Nuclear	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
1	19 100% (-)	19 94,4%(5,4)	12 94,4%(5,4)	7 94,4%(5,4)		1
2	67 97,2%(2,0)	65 97,2%(2,0)	53 95,6%(2,5)	33 91,2%(3,9)	0,90	9902,94 Indeterm.
3	40 97,6%(2,4)	29 80,0%(6,4)	20 65,6%(7,8)	14 58,5%(8,4)	0,89	52393,93 Indeterm.
4	8 74,1%(12,9)	5 46,3%(15,0)	5 46,3%(15,0)	2 37,07%(14,6)	0,88	105692,15 Indeterm.
“bajo grado”	86 97,8%(1,6)	84 97,8%(1,6)	65 96,5%(2,0)	40 92,7%(3,3)		1
“alto grado”	48 92,6%(3,6)	34 72,7%(6,21)	25 61,6%(7,0)	16 53,5%(7,5)	<0,001	7,73 (3,32-18,00)

2.9. SUPERVIVENCIA E INMUNOEXPRESIÓN TISULAR.

2.9.1. CAIX

Se estudia la supervivencia en relación con el porcentaje de pacientes vivos (con o sin enfermedad) considerando el tanto por ciento de células que expresan en su membrana CAIX. No encontramos diferencias significativas en la supervivencia de ambos grupos ($p=0,25$) (Tabla 20).

Tabla 20. *Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor expresión de CAIX.*

Marcador CAIX	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr(EE)	36 meses n Pr(EE)	72 meses n Pr(EE)	P	HR (IC) 95%
(-)	41 95,6%(3,1)	37 93,2%(3,8)	30 90,6%(4,5)	18 84,6%(5,9)	0,21	1 1,73 (0,73-4,07)
(+)	85 97,7%(1,6)	73 87,3%(3,6)	52 80,9%(4,3)	33 75,3%(5,1)		

2.9.2. VEGF

Comparada la supervivencia de los carcinomas de células renales que muestran o no expresión de VEGF en citoplasma, obtenemos diferencias estadísticamente significativas a favor de los que no expresan este marcador ($p=0,001$). Consideramos al menos el 50% de las células como punto de corte para considerarlo positivo. (Tabla 21). La figura 40 muestra las curvas de supervivencia en relación con la expresión de este marcador.

Tabla 21. *Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor expresión de VEGF.*

Marcador VEGF	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC)95%
(-)	108 98,2%(1,2)	98 92,7%(2,5)	79 87,8%(3,2)	49 83,0%(3,8)	0,002	1 3,76 (1,63-8,64)
(+)	17 90,5%(6,4)	11 67,9%(10,9)	4 58,2%(13,0)	3 43,6%(15,90)		

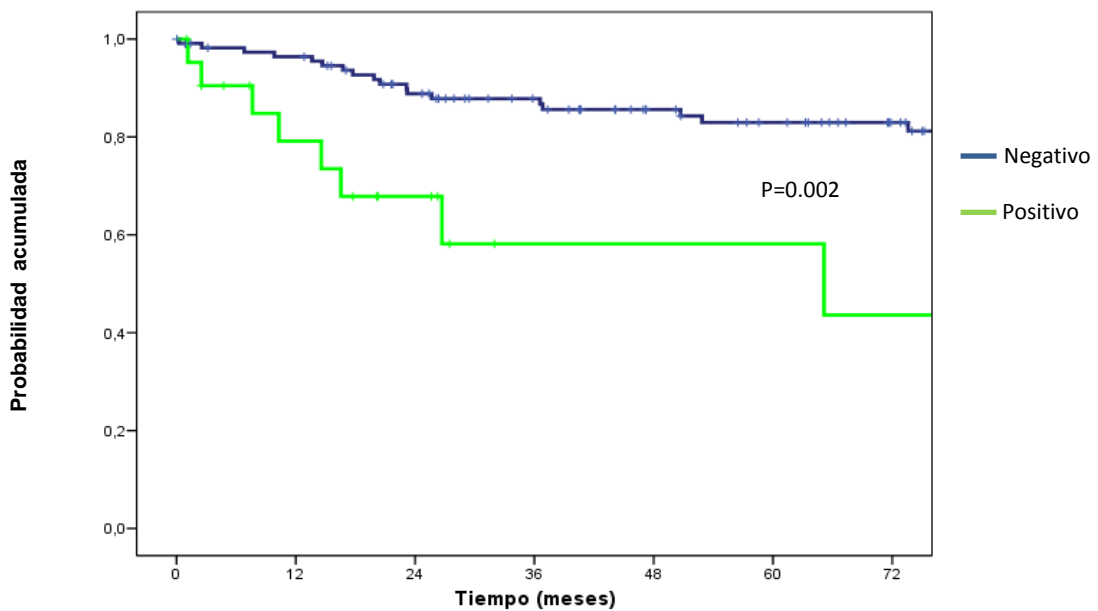


Fig. 40. *Curvas de Kaplan-Meier de supervivencia según expresión de VEGF.*

Se realiza también una valoración de la intensidad con la que se expresa el marcador cuando éste es positivo, de tal forma que se estratifica en expresión de forma débil o moderada/intensa. El comportamiento en cuanto a supervivencia también es claramente diferente, con significación estadística ($p=0,002$). (Tabla 22).

Tabla 22. **Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor expresión de VEGF.**

Marcador VEGF	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
Negativo	108 98,2%(1,2)	98 92,7%(2,5)	79 87,8%(3,2)	49 83,0%(3,8)		1
Expresión débil	12 87,5%(8,3)	9 65,6%(12,6)	3 65,6%(12,6)	3 65,6%(12,6)	0,03	3,02 (1,12-8,13)
Expresión moderada-intensa	5 100%(-)	2 75,0%(21,7)	1 37,5%(28,6)	0 0%(-)	0,003	6,38 (1,86-21,88)

2.9.3. **PTEN**

Se valora la inmunoexpresión de PTEN en 139 casos. Para su estudio se cuantifica el porcentaje de células que marcan PTEN, estratificado en 5 grupos: negativo, ≤ 25%, 26-50%, 51-75% y > 75%. Igualmente se estudia la intensidad con la que las células lo expresan: negativo, débil, moderada-fuerte. Finalmente se objetiva la positividad o no de su expresión citoplasmática.

2.9.3.1. **Porcentaje de células que expresan PTEN.**

No encontramos diferencias estadísticamente significativas en cuanto a supervivencia cuando estratificamos en estos grupos el porcentaje de células que expresan PTEN (p=0,96). Dados los datos obtenidos mejoramos la potencia estadística reagrupando los datos y fijamos el punto de corte en el 75% de las células que tiñen PTEN. De esta forma tampoco obtenemos significación estadística en el comportamiento en cuanto a supervivencia

en nuestra serie ($p=0,90$). (Tabla 23). Se toma como referencia el grupo cuyas células más PTEN expresan para el cálculo de los riesgos relativos.

Tabla 23. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor porcentaje de células que expresan PTEN.

Marcador PTEN %	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
0%	1 100%(-)	1 100%(-)	1 100%(-)	1 100%(-)	0,99	Indeterminado
< 25%	1 100%(-)	1 100%(-)	1 100%(-)	1 100%(-)	0,99	Indeterminado
25-50%	9 100%(-)	9 100%(-)	7 80,0%(12,6)	6 80,0%(12,6)	0,49	1,47 (0,49-4,44)
51-75%	39 97,6%(2,4)	33 87,5%(5,2)	27 84,8%(5,7)	18 74,3%(7,6)	0,78	1.12 (0,51-2,48)
>75%	75 95,0%(2,4)	65 87,3%(3,8)	47 82,8%(4,4)	26 78,9%(5,0)		1
≤75%	50 98,1%(1,8)	44 90,4%(4,1)	36 84,3%(5,1)	26 76,6%(6,3)	0,73	1.14 (0,55-2,34)
>75%	75 95,0%(2,4)	65 87,3%(3,8)	47 82,8%(4,4)	26 78,9%(5,0)		1

2.9.3.2. Intensidad de expresión de PTEN.

No podemos decir que la supervivencia de los pacientes sea diferente en nuestra serie cuando estratificamos según la intensidad de expresión de PTEN en las células ($p=0,95$). Tampoco obtenemos valores significativos cuando agrupamos y comparamos los tumores que tienen más intensamente frente al resto ($p=0,96$). (Tabla 24).

Tabla 24. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor intensidad de expresión de PTEN.

Marcador Intensidad PTEN	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr(EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
Negativo	1 100%(-)	1 100%(-)	1 100%(-)	1 100%(-)	0,98	Indeterminado
Débil	10 100%(10,8)	10 100%(12,9)	8 81,8%(11,6)	8 81,8%(11,6)	0,98	1,02 (0,27-3,86)
Moderado	78 96,3%(2,1)	65 87,4%(3,7)	49 84,6%(4,11)	28 74,5%(5,6)	0,70	0,70 (0,52-2,69)
Intenso	36 94,9%(3,5)	33 87,0%(5,3)	25 81,8%(6,5)	16 81,1%(6,5)		1
No Intenso	89 96,8%(1,8)	76 89,1%(3,3)	58 84,4%(3,9)	37 76,1%(5,0)	0,76	1,14 (0,51-2,55)
Intenso	36 94,9%(3,5)	33 87,0%(5,3)	25 81,8%(6,5)	16 81,1%(6,5)		1

2.9.3.3 PTEN citoplasmático.

Cuando estratificamos las muestras por la expresión o no de PTEN citoplasmático obtenemos una tendencia a un comportamiento distinto en la supervivencia de los pacientes. Así, la supervivencia es mayor en aquellos tumores que expresan frente a los que no. (Tabla 25).

Tabla 25. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor expresión de PTEN citoplasmático.

Marcador PTEN Citoplasmático	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC)95%
(+)	28 93,3%(4,6)	26 93,3%(4,6)	21 93,3%(4,6)	13 88,4%(6,4)		1
(-)	98 97,1%(1,6)	84 87,1%(3,3)	62 80,5%(4,0)	39 74,6%(4,7)	0,097	2,80 (0,85-9,24)

2.9.4. **P-AKT.**

Se valora la expresión de p-AKT en 141 muestras. Analizamos la supervivencia de los pacientes relacionándolos con el porcentaje de células tumorales que lo expresan, así como con el grado de expresión de éstas. En el primer caso se estratifican en 5 grupos: negativo, < 25%, 26-50%, 51-75% y > 75%. En el segundo, la estratificación se realiza en negativo, débil, moderado-intenso.

2.9.4.1. **Porcentaje de células que expresan p-AKT.**

Apreciamos en nuestra serie un comportamiento diferente en la supervivencia de algunos grupos con respecto al de referencia. Hemos comprobado la supervivencia de los pacientes cuyos tumores expresan p-AKT (en cualquier porcentaje) frente a los que no lo hacen. Los resultados obtenidos indican la diferente evolución de cada uno de los grupos, con significación estadística (tabla 26). La figura 41 expresa los datos de forma gráfica mediante curvas de supervivencia según expresión o no del marcador.

Tabla 26. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor porcentaje de células que expresan p-AKT.

Marcador p-AKT %	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
(-)	98 96,2%(1,9)	85 88,2%(3,2)	62 84,9%(3,6)	40 83,5%(3,8)		1
< 25%	3 100%(-)	2 50,0%(25,0)	2 50,0%(25,0)	0 50,0%(25,0)	0,04	4,87 (1,11-21,35)
25-50%	16 94,1%(5,7)	16 94,1%(5,7)	13 81,6%(9,6)	9 73,4%(11,6)	0,46	1,46 (0,54-3,92)
51-75%	6 85,7%(17,1)	6 85,7%(13,2)	5 71,4%(17,1)	3 53,6%(20,1)	0,03	3,23 (1,09-9,57)
>75%	4 100%	2 100%	2 100%(-)	0 50%(35,4)	0,03	4,98 (1,14-21,75)
Negativo	98 96,2%(1,9)	85 88,2%(3,2)	62 84,9%(3,6)	40 83,5%(3,8)		1
Positivo	29 93,5% (4,4)	26 87,1% (6,0)	22 76,8%(7,7)	12 60,1%(9,6)	0,02	2,37 (1,16-4,84)

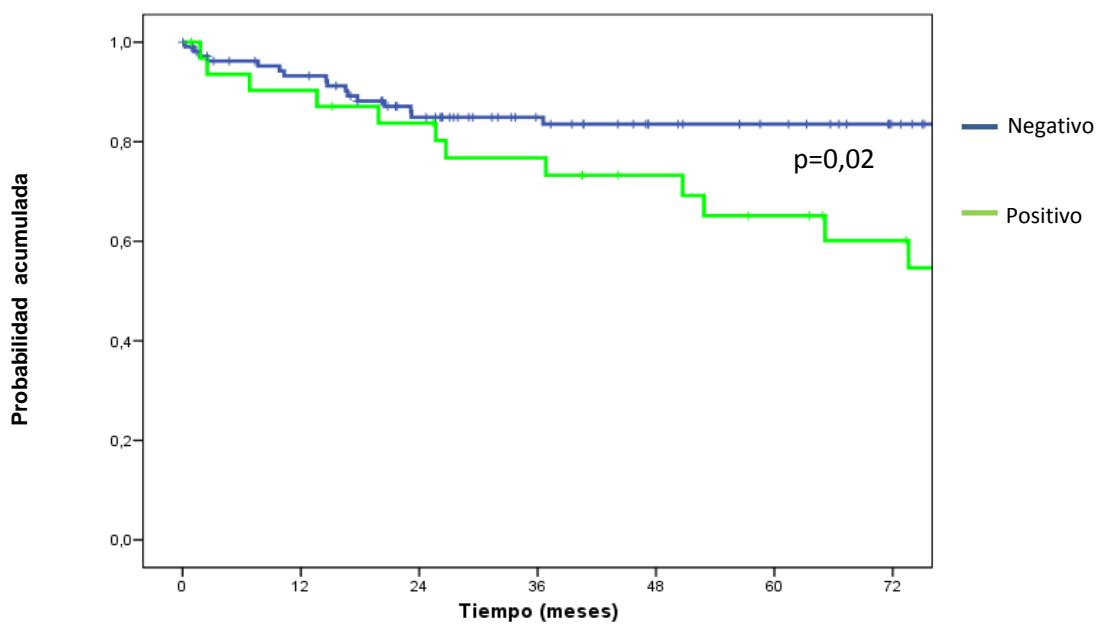


Fig. 41. Curvas de supervivencia según expresión de p-AKT

2.9.4.2. Intensidad de expresión.

Percibimos una diferente supervivencia, con significación estadística, en los pacientes cuyos tumores expresan de forma modera-intensa p-AKT, siendo peor el pronóstico que cuando no lo expresan. (Tabla 27). La figura 42 describe mediante curvas de supervivencia los datos anteriormente expresados.

Tabla 27. **Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor intensidad de expresión de p-AKT.**

Marcador Intensidad p-AKT	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
(-)	98 96,2%(1,9)	85 88,2%(3,2)	62 84,9%(3,6)	40 83,5%(3,8)		1
Débil	23 83,3%(10,8)	20 74,1%(12,9)	17 74,1%(12,9)	10 52,9%(15,7)	0,07	2,07 (0,93-4,62)
Moderado/ Intenso	6 100%(-)	6 100%(-)	5 83,3%(15,2)	2 33,3%(19,2)	0,02	3,48 (1,18-10,31)

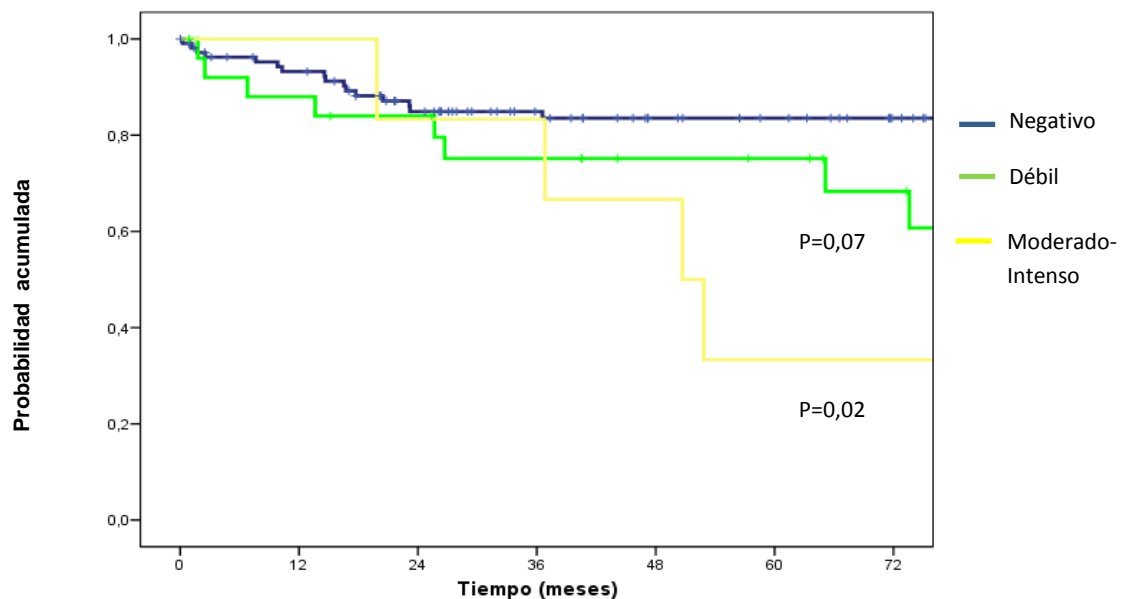


Fig 42. **Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia según intensidad de expresión de p-AKT.**

2.9.5. Densidad Microvascular.

Obtenemos una muestra representativa de nuestra serie, de 40 casos a los que realizamos el estudio de densidad microvascular mediante tinción del antígeno CD31. Tomamos como punto de corte la mediana de la serie de estos 40 casos (42,0) para comparar ambos grupos en cuanto a supervivencia. No obtenemos diferencias significativas en la comparación de supervivencia de ambos grupos ($p=0,80$). (Tabla 28).

Tabla 28. *Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor densidad microvascular.*

Marcador Densidad Microvascular	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
<42	15 94,4%(5,4)	14 94,4%(5,4)	10 87,7%(8,2)	2 78,9%(11,1)		1
>42	17 89,5%(7,0)	16 84,2%(8,4)	8 84,2%(8,4)	4 84,2%(8,4)	0,99	0,99 (0,20-4,93)

2.9.6. Ki67

Consideramos este marcador como exponente de proliferación celular, tomando como punto de corte la expresión de al menos el 20% de las células para considerarlo positivo. Obtenemos una clara diferencia en la supervivencia de ambos grupos al compararlos ($p=0,001$). (Tabla 29 y figura 43).

Tabla 29. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor expresión de ki67.

Marcador Ki 67	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
Negativo	115 95,9% (1,8)	102 90,0% (2,7)	80 85,4% (3,3)	51 80,6% (3,9)	0,001	1 4,91 (1,96-12,29)
Positivo	9 90,9%(8,7)	6 60,6%(15,4)	3 45,5%(17,5)	0 22,7%(18,3)		

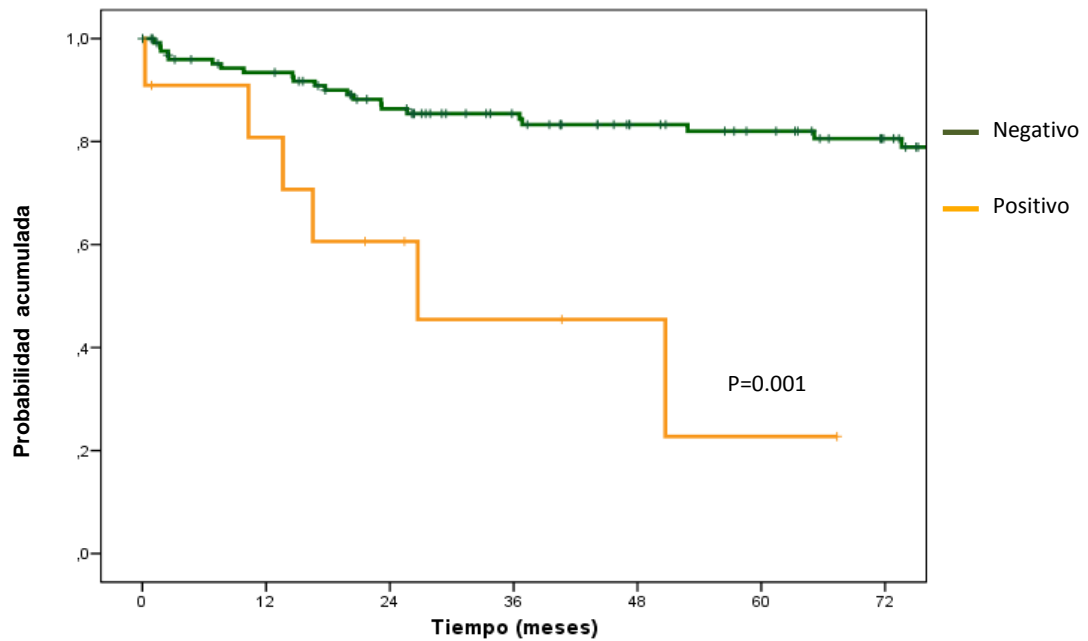


Fig.43. Curva de supervivencia según expresión de Ki67.

2.9.7. BCL-2

Utilizamos este marcador como exponente de la apoptosis celular. No objetivamos diferencias en cuanto a supervivencia entre el grupo de pacientes con tumores que marcan o no esta proteína ($p=0,49$). (Tabla 30).

Tabla 30. **Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor expresión de bcl-2.**

Marcador BCL-2	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
(-)	35 92,4% (4,4)	31 89,3% (5,1)	26 89,3% (5,1)	14 82,0% (6,8)		1
(+)	89 96,9%(1,8)	77 87,0%(3,5)	57 79,9%(4,2)	37 74,9%(4,9)	0,74	1,15 (0,51-2,56)

2.10. INTERVALO LIBRE DE ENFERMEDAD (ILE)

Se excluyen de la muestra aquellos pacientes con tumores en estadio M1 para el cálculo de los intervalos libres de enfermedad, por considerar que no quedan libres de ésta tras la intervención quirúrgica, de forma que la muestra se compone de 146 tumores.

2.11. RECIDIVA Y EDAD.

La edad en nuestra serie es una variable que condiciona el pronóstico de los pacientes. Tomando como punto de corte los 60 años, obtenemos una probabilidad de recidiva tumoral significativamente distinta ($p=0,01$), con peor pronóstico para los pacientes de mayor edad. Se muestra en la tabla 31.

Tabla 31. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor edad.

Marcador Edad	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
≥60 años	54 90,4% (3,7)	40 68,3% (6,0)	32 66,4% (6,2)	18 55,6% (7,1)	0,009	2,30 (1,23-4,30)
<60 años	68 92,0%(3,1)	61 89,3%(3,6)	44 84,5%(4,3)	28 75,1%(5,9)		

2.12. RECIDIVA TUMORAL Y EXPRESIÓN CLÍNICA.

No encontramos, en nuestros tumores, una evolución diferente en relación con la clínica al diagnóstico, incidental o por aparición de sintomatología, en cuanto a la aparición posterior de enfermedad (p=0,379). La evolución se expone en la tabla 32.

Tabla 32. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor expresión clínica al diagnóstico.

Marcador Expresión clínica	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
Sintomáticos	50 90,4% (3,7)	41 68,3% (6,0)	33 66,4% (6,2)	23 55,6% (7,1)	0,40	1,30 (0,7-2,38)
Incidentales	72 94,9%(2,5)	60 81,5%(4,5)	43 79,7%(4,7)	23 65,7%(6,5)		

2.13. RECIDIVA TUMORAL Y ESTADIO pT.

La recidiva tumoral, local o a distancia, se correlaciona en nuestra serie entre los 6 y los 72 meses con el estadio inicial en el momento de ser intervenidos con un valor de $p < 0,001$. El porcentaje libre de recidivas en general es mayor en estadios menos avanzados que en los más avanzados en cada punto de corte en el tiempo, oscilando entre el 97,1% a los 6 meses en T_{1a} y el 0% a los 18 meses de los T₄. La expresión detallada de recidiva tumoral según el estadio pT se refleja en la tabla 33.

Tabla 33. **Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor estadio pT.**

Marcador pT	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
T1a	33 97,1%(2,8)	30 91,3%(4,8)	25 91,3%(4,8)	10 75,6%(9,2)		1
T1b	39 97,5%(2,5)	35 92,4%(4,2)	25 86,5%(5,7)	16 81,9%(7,0)	0,96	1,03 (0,34-3,05)
T2	20 80,0%(8,0)	15 71,3%(9,2)	11 71,3%(9,2)	9 64,2%(10,7)	0,14	2,21 (0,77-6,39)
T3a	22 88,7%(6,1)	17 68,6%(9,2)	12 64,5%(9,5)	10 58,7%(10,3)	0,03	3,07 (1,15-8,19)
T3b	7 87,5%(11,7)	4 50,0%(17,7)	3 37,5%(17,1)	1 12,5%(11,7)	<0,001	7,71 (2,57-23,14)
T4	1 50,0%(35,4)	0 0%(-)	0 0%(-)	0 0%(-)	0,002	13,61 (2,26-69,63)

Con el análisis de los datos y agrupando tumores en estadios de comportamiento análogo, aumentamos la potencia estadística y obtenemos los resultados expresados en la tabla 34. En dicha tabla se agrupan los tumores T_{1a} +T_{1b} y los T_{3b} +T₄; obtenemos un valor de p< 0.001.

Tabla 34. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor estadio pT agrupados.

Marcador pT	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
pT1	72 97,3%(1,9)	65 91,8%(3,2)	50 88,7%(3,8)	26 78,8%(5,8)		1
pT2	20 80,0%(8,0)	11 71,3%(9,2)	15 71,3%(9,2)	9 64,2%(10,7)	0,084	2,18 (0,90-5,27)
pT3a	22 88,7%(6,1)	17 68,6%(9,2)	12 64,5%(9,5)	10 58,7%(10,3)	0,006	3,02 (1,38-6,64)
≥pT3b	8 80,0%(12,6)	4 40,0%(15,5)	3 30,0%(14,5)	1 10,0%(9,5)	<0,001	8,39 (3,54-19,87)

2.14. RECIDIVA TUMORAL Y ESTADIO pN.

En 9 pacientes existía afectación ganglionar objetivada histológicamente. El porcentaje libre de enfermedad comparando pN0 con pN1 y pN2 difiere de forma significativa con una p<0,001, siendo diferentes estadísticamente los N₂, pero no los N₁. Se expresan los datos en la tabla 35.

Tabla 35. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor estadio patológico ganglionar (pN).

Marcador pN	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
N0	117 92,3%(2,3)	98 81,8%(3,4)	74 78,9%(3,7)	44 68,2%(4,8)		1
N1	3 75,0%(21,7)	3 75,0%(21,7)	2 50,0%(25,0)	2 50,0%(25,0)	0,50	1,65 (0,40-6,94)
N2	2 88,7%(6,1)	0 68,6%(9,2)	0 64,5%(9,5)	0 58,7%(10,3)	<0,001	10,43 (3,00-36,22)

2.15. RECIDIVA TUMORAL Y TIPO HISTOLÓGICO.

En nuestra serie no podemos decir que el comportamiento sea distinto según el tipo histológico del adenocarcinoma renal ($p=0,21$). Cabe destacar la buena evolución de los cromóforos con un porcentaje libre de enfermedad del 100% a los 36 meses y del 87.5% a los 72 meses, así como de los quísticos multiloculares, con un 100% de pacientes libres de enfermedad a los 72 meses, aunque sin significación estadística, probablemente por el escaso número de casos. Se recogen todas las cifras en la tabla 36.

Tabla 36. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor tipo histológico.

Marcador Tipo Histológico	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
Células Claras	88 90,1%(3,0)	71 76,6%(4,3)	55 73,1%(4,5)	37 63,6%(5,4)		1
Papilar	19 90,5%(6,4)	16 81,0%(8,6)	10 74,7%(9,9)	3 62,3%(14,1)	0,80	1,11 (0,49-2,52)
Cromóforo	13 100%(-)	13 100%(-)	13 100%(-)	5 87,5%(11,7)	0,13	0,21 (0,29-1,54)
Quístico	4 100%(-)	4 100%(-)	4 100%(-)	4 100%(-)	0,98	Indefinido
Multilocular						

2.16. RECIDIVA TUMORAL Y GRADO NUCLEAR.

La valoración del comportamiento tumoral en relación con el grado nuclear se realiza de dos formas. Según el grado Fuhrman, el porcentaje de pacientes libres de tumor a los 72 meses es significativamente mayor cuanto menor es el grado, con una $p < 0,001$. Comprobamos que el comportamiento de los grados 1 y 2 no difiere significativamente por lo que optamos por agruparlos en tumores de bajo grado (grados 1 y 2) y de alto grado (grados 3 y 4) obteniendo de esta forma una mejor significación estadística. Los datos aparecen en la tabla 37.

Tabla 37. **Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor grado nuclear.**

Marcador Grado Nuclear	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
1	18 100% (-)	17 94,4%(5,4)	11 94,4%(5,4)	7 94,4%(5,4)		1
2	65 98,5%(1,5)	59 92,4%(3,3)	47 90,6%(3,7)	28 78,8%(5,9)	0,58	1,53 (0,34-6,82)
3	35 80,0%(8,0)	23 71,3%(9,2)	16 71,3%(9,2)	10 64,2%(10,7)	0,02	5,74 (0,34-24,60)
4	4 88,7%(6,1)	2 68,6%(9,2)	2 64,5%(9,5)	1 58,7%(10,3)	<0,001	16,94 (3,55-80,87)
“bajo grado”	83 98,8%(1,2)	76 92,8%(2,8)	58 91,4%(3,1)	35 81,4%(5,0)		1
“alto grado”	39 78,9%(5,7)	25 57,8%(7,1)	18 50,4%(7,4)	11 40,0%(7,9)	<0,001	4,94 (2,59-9,43)

2.17. RECIDIVA TUMORAL E INMUNOEXPRESIÓN TISULAR.

2.17.1. Anhidrasa Carbónica IX (CAIX).

Se estudia la evolución en relación con el porcentaje de pacientes libre de recidiva tumoral, local o a distancia, considerando el porcentaje de células que expresan en su membrana CAIX. El punto de corte discriminativo es el 50%, de tal forma que se consideran negativos cuando menos del 50% de las células lo expresan y positivo en caso contrario. Aunque estadísticamente no se encuentran diferencias entre los dos grupos ($p=0,054$), sí se encuentra una marcada tendencia que probablemente se

haría significativa si existiera un mayor número de casos. Los resultados se muestran en la tabla 38 y las curvas de supervivencia en la figura 44.

Tabla 38. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor CAIX.

Marcador CAIX	6 meses	18 meses	36 meses	72 meses	P	HR (IC) 95%
	n	n	n	n		
	Pr (EE)	Pr (EE)	Pr (EE)	Pr (EE)		
(-)	40 95,5%(3,1)	35 90,6%(4,5)	27 85,0%(5,7)	15 76,1%(7,9)	0,08	1 1,94 (0,92-4,10)
(+)	74 89,3%(3,4)	59 74,5%(4,8)	42 71,6%(5,0)	26 59,6%(6,1)		

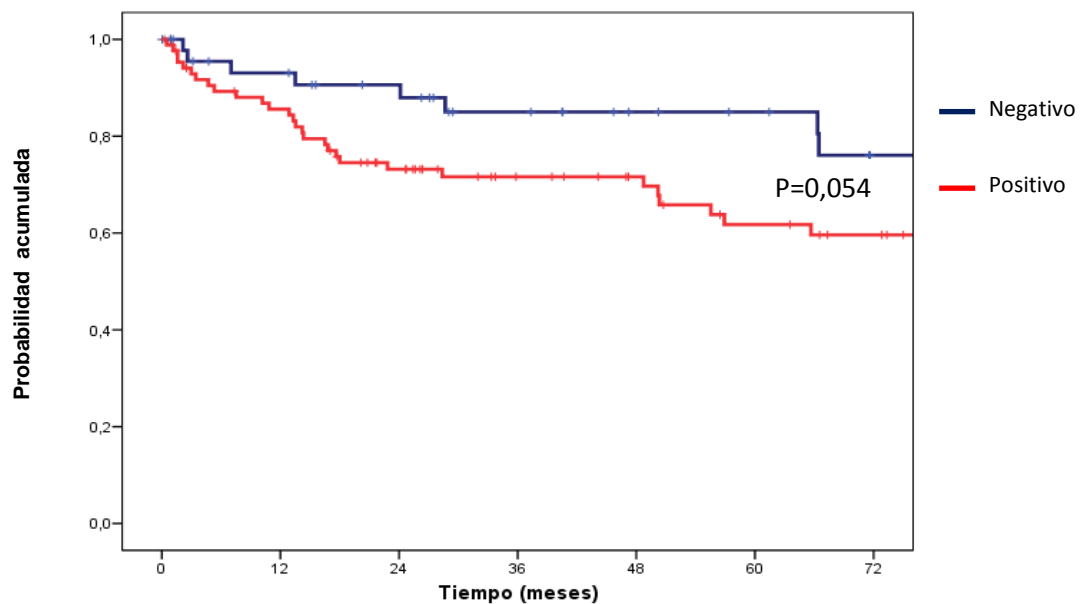


Fig. 44. Curvas de Kaplan-Meier para intervalo libre de enfermedad según la expresión de CAIX.

2.17.2 VEGF.

Analizamos las diferencias existentes en los tumores que expresan VEGF y la intensidad con la que lo hacen en relación con los que no lo expresan. Marcamos el punto de corte en el 50%, de tal forma que se considera negativo cuando la expresión citoplasmática del marcador se da en menos de este porcentaje. Encontramos una tendencia a que los tumores que no expresan VEGF se comporten mejor que los que si lo hacen ($p= 0,06$). Cuando agrupamos los pacientes en los que se consideran negativos en la expresión y los comparamos con los positivos, independientemente de la intensidad de la misma, si obtenemos una significación estadística ($p=0,02$) en la evolución de cada uno de los grupos; se muestran los datos en la tabla 39.

Tabla 39. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor VEGF.

Marcador VEGF	6 meses	18 meses	36 meses	72 meses	P	HR (IC) 95%
	n Pr (EE)	n Pr (EE)	n Pr (EE)	n Pr (EE)		
Negativo	101 94,4%(2,2)	85 83,1%(3,6)	68 78,9%(4,0)	40 67,3%(5,1)		1
Expresión débil	9 72,6%(11,9)	8 64,5%(13,0)	2 64,5%(13,0)	2 64,5%(13,0)	0,17	1,96 (0,75-5,06)
Expresión moderada-intensa	3 75,0%(21,7)	0 0%(-)	0 0%(-)	0 0%(-)	0,08	3,75 (0,87-16,10)
Negativo	101 94,4%(2,2)	85 83,1%(3,6)	68 78,9%(4,0)	40 67,3%(5,1)		1
Positivo	12 72,9%(10,4)	8 58,9%(12,3)	2 58,9%(12,3)	2 58,9%(12,3)	0,06	2,25 (0,98-5,17)

2.17.3 PTEN.

Se ha valorado la expresión inmunohistoquímica de PTEN en 136 tumores. Para su estudio se cuantifica el porcentaje de células que marcan PTEN, estratificado en 5 grupos: negativo, 0-25%, 26-50%, 51-75% y >75%. Igualmente se estudia la intensidad con la que las células lo expresan, negativo, débil, moderada o intenso. Finalmente se objetiva la positividad o no de su expresión citoplasmática.

2.17.3.1 Porcentaje de células que expresan PTEN.

Estratificada la muestra en los grupos previamente citados, no encontramos diferencias en el comportamiento de los tumores en relación al periodo libre de enfermedad según el porcentaje de células que lo expresan ($p=0,46$). Tomando como punto de corte el 75% de las células, tampoco se infiere ninguna diferencia en la evolución de ambos grupos con respecto al intervalo libre de enfermedad (Tabla 40). Se toma como subgrupo de referencia para calcular los riesgos relativos aquel cuyas células expresan más PTEN.

Tabla 40. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor % de células que expresan PTEN.

Marcador PTEN %	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
0%	1 100%(-)	1 100%(-)	0 0%	0 0%	0,08	6,13 (0,81-46,53)
< 25%	1 100%(-)	1 100%(-)	1 100%(-)	1 100%(-)	0,98	Indeterminado
25-50%	9 100%(-)	7 88,9%(10,5)	7 88,9%(10,5)	4 66,5%(16,9)	0,67	1,26 (0,43-3,69)
51-75%	33 84,9%(5,7)	28 77,1%(6,7)	21 71,2%(7,4)	16 67,3%(8,0)	0,62	1,19 (0,60-2,39)
>75%	70 93,5%(2,8)	57 81,1%(4,6)	41 78,1%(4,9)	21 65,1%(6,7)		1
≤75%	44 88,4%(4,5)	37 78,3%(5,8)	29 73,7%(6,3)	21 65,4%(7,2)	0,52	1,23 (0,65-2,31)
>75%	70 93,5%(2,8)	57 81,1%(4,6)	41 78,1%(4,9)	21 65,1%(6,7)		1

2.17.3.2 Intensidad de expresión.

Estratificada la muestra según la intensidad de expresión, no encontramos diferencias significativas en el intervalo libre de enfermedad comparando cada subgrupo (p=0,24). La tabla 41 ofrece los datos obtenidos. No mejora la significación estadística al agrupar los tumores comparando los que tiñen de forma intensa en relación al resto (p=0,28).

Tabla 41. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor intensidad de expresión de PTEN.

Marcador Intensidad PTEN	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
Negativo	1 100%(-)	1 100%(-)	0 0%(-)	0 0%(-)	0,04	8,72 (1,06-71,50)
Débil	9 83,3%(10,8)	7 74,1%(12,9)	7 74,1%(12,9)	5 52,9%(15,7)	0,18	2,16 (0,71-6,30)
Moderado	71 92,3%(3,0)	56 80,2%(4,6)	39 75,2%(5,1)	22 62,2%(6,8)	0,20	1,70 (0,76-3,76)
Intenso	33 91,9%(4,5)	30 83,6%(6,1)	24 80,6%(6,64)	15 76,6%(7,4)		1
No Intenso	81 91,1%(3,0)	64 78,4%(4,4)	46 74,2%(4,8)	27 60,04%(6,2)	0,14	1,23 (0,83-3,92)
Intenso	33 91,9%(4,5)	30 83,6%(6,1)	24 80,6%(6,64)	15 76,6%(7,4)		1

2.17.3.3 PTEN Citoplasmático.

Se considera la inmunoexpresión citoplasmática de PTEN en las células tumorales, estratificándolo según su existencia o no. Podemos afirmar que el comportamiento varía de forma significativa entre el grupo que lo expresa y el que no lo hace ($p= 0,04$), de tal forma que existe un mayor intervalo libre de enfermedad en los tumores que marcan PTEN citoplásmico. La tabla 42 nos ofrece todos los datos y en la figura 45 se observa la gráfica con las curvas de recidiva tumoral.

Tabla 42. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor PTEN citoplasmático.

Marcador PTEN Citoplasmático	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr(EE)	P	HR (IC) 95%
Positivo	28 95,6%(3,4)	26 96,6%(3,4)	20 92,7%(5,0)	10 76,1%(9,6)	0,07	2,40 (0,93-6,12)
Negativo	86 89,9%(3,0)	68 75,0%(4,4)	50 71,2%(4,7)	32 62,3%(5,6)		

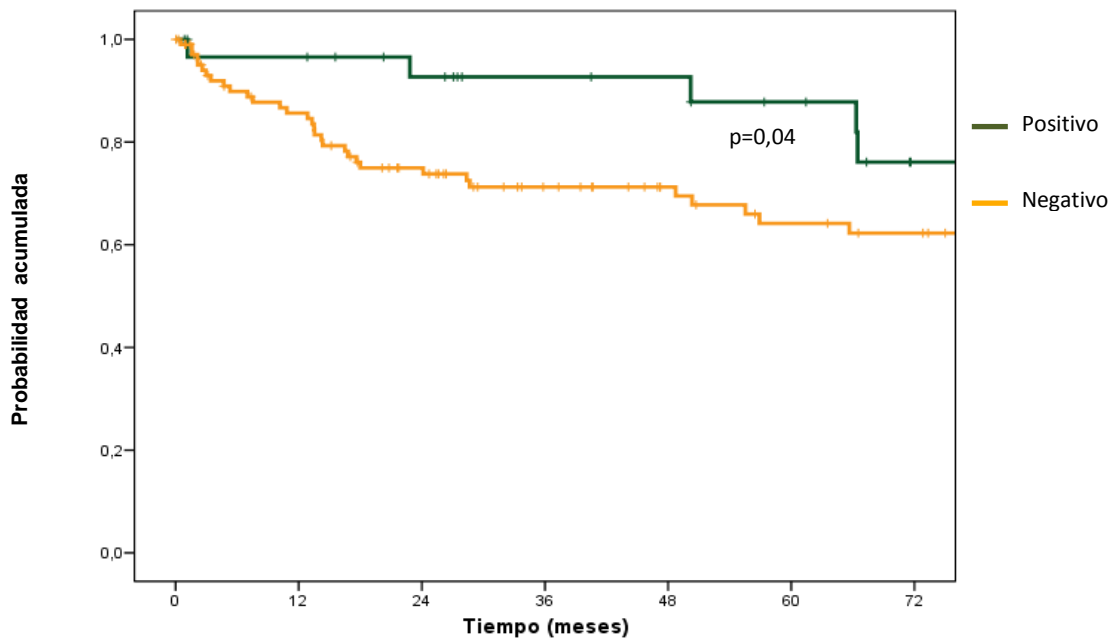


Fig. 45. Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia libre de enfermedad según la inmunexpresión de PTEN citoplasmático.

2.17.4 p-AKT.

Se valora la expresión de p-AKT en 138 muestras tumorales. Analizamos su evolución en el tiempo libre de enfermedad relacionándola con el porcentaje de células tumorales que lo expresan así como con el grado de expresión de las mismas. En el primer caso se estratifica en 5 grupos: negativo, ≤25%, 25-50%, 51-75% y >75%. En el segundo, la estratificación realizada se etiqueta en negativo, débil e intenso.

2.17.4.1 Porcentaje de células que expresan p-AKT.

Una vez realizada la estratificación en los grupos previamente mencionados, se aprecia que existe un comportamiento diferente a 72 meses en los grupos (p=0,04). La tabla 43 expresa los datos de evolución a 6, 18, 36 y 72 meses.

Tabla 43. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor p-AKT.

Marcador p-AKT	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
Negativo	90 92,0%(2,7)	74 80,5%(4,0)	54 79,4%(4,1)	32 69,9%(5,4)		1
< 25%	2 83,3%(10,8)	1 74,1%(12,9)	1 74,1%(12,9)	0 52,9%(15,7)	0,002	6,89 (2,03-23,31)
25-50%	16 92,3%(3,0)	13 80,2%(4,6)	11 75,2%(5,1)	8 62,2%(6,8)	0,924	0,96 (0,37-2,49)
51-75%	5 71,4%(17,1)	5 71,4%(17,1)	4 57,1%(18,7)	2 57,1%(19,9)	0,125	2,29 (0,78-6,61)
>75%	2 100%	2 100%	1 50,0%(35,4)	0 0%(-)	0,127	3,09 (0,73-13,13)

Si tomamos como punto de corte la expresión o no del marcador, independientemente del porcentaje de células que lo expresan, la evolución nos muestra una tendencia a un mejor pronóstico en los tumores que no expresan p-AKT, si bien no alcanza significación estadística ($p= 0,09$). La tabla 44 expresa con detalle los datos obtenidos; la figura 46 muestra las curvas de Kaplan-Meier para tiempo libre de enfermedad según la expresión del marcador.

Tabla 44. **Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor expresión de p-AKT.**

Marcador p-AKT	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
Negativo	90 92,0%(2,7)	74 80,5%(4,0)	54 79,4%(4,1)	32 69,9%(5,4)	0,09	1 1,74 (0,91-3,33)
Positivo	25 86,4%(6,3)	21 75,9%(8,7)	17 64,7%(9,0)	10 51,7%(9,8)		

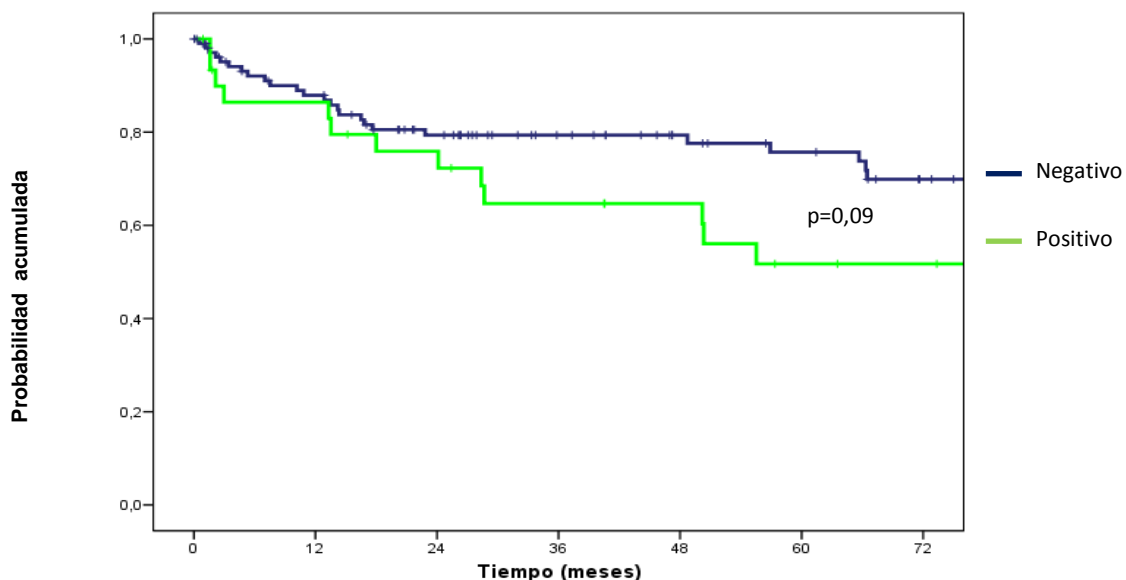


Fig. 46. **Curvas de Kaplan-Meier para tiempo libre de enfermedad según la inmunexpresión de p-AKT.**

Cuando situamos el punto de corte en el 50% de las células que expresan el marcador y lo comparamos con los tumores que lo hacen en menor porcentaje o no lo expresan, obtenemos una evolución distinta, con significación estadística (Tabla 45) para aquellos que marcan más del 50% de las células.

Tabla 45. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor expresión de p-AKT (-) vs <50% vs >50%.

Marcador p-AKT	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
(-)	90 92,0%(2,7)	74 80,5%(4,0)	54 79,4%(4,1)	32 69,9%(5,4)		1
≤ 50%	18 89,7%(6,9)	14 73,9%(10,1)	12 68,6%(10,6)	8 62,4%(11,3)	0,38	1,42 (0,64-3,14)
>50%	7 80,0%(12,6)	7 80,0%(12,6)	5 57,1%(16,4)	2 28,67%(16,53)	0,04	2,50 (1,03-6,09)

2.17.4.2 Intensidad de expresión.

En nuestra serie no encontramos globalmente una evolución diferente según la intensidad de expresión de este marcador ($p=0,25$), pero sí existe diferente comportamiento de aquellos que lo expresan de forma más marcada con respecto al resto con una mayor probabilidad de recidiva para los tumores que lo expresan de forma intensa ($p=0,03$). La tabla 46, exhibe los datos encontrados a este respecto y la figura 47 sus curvas de evolución.

Tabla 46. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor intensidad de p-AKT.

Marcador p-AKT	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
Negativo	90 92,0%(2,7)	74 80,5%(4,0)	54 79,4%(4,1)	32 69,9%(5,4)		1
Débil	20 87,1%(6,9)	16 73,8%(9,2)	14 69,2%(9,7)	8 57,7%(11,0)	0,36	1,42 (0,67-3,02)
Intenso	5 83,3%(15,2)	5 83,3%(15,2)	4 66,7%(19,2)	2 33,3%(19,2)	0,03	2,99 (1,14-7,81)

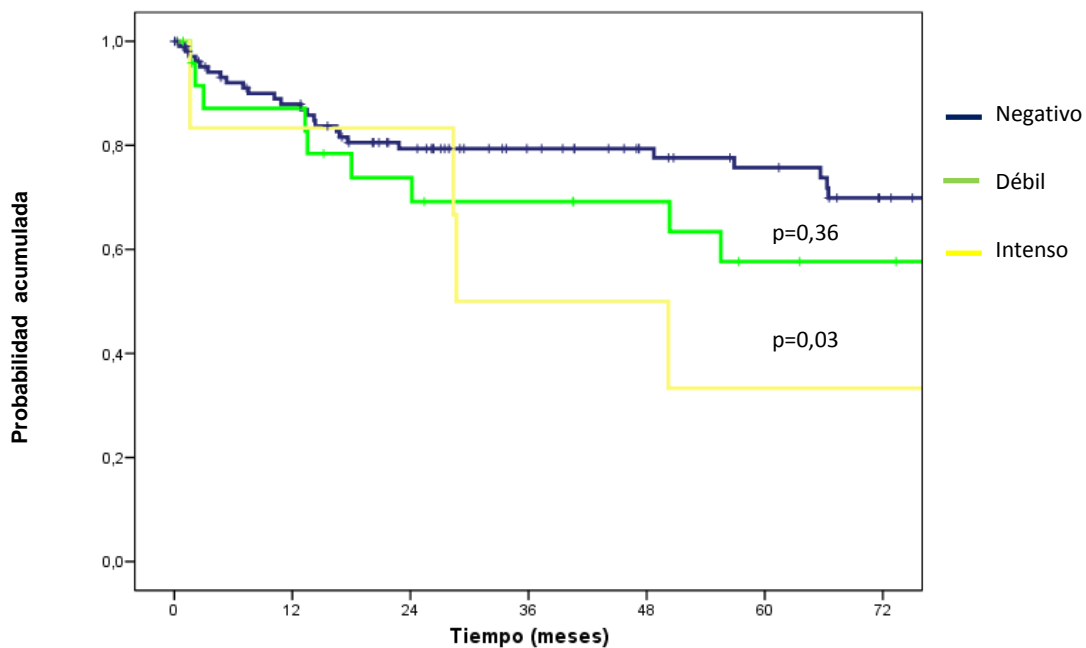


Fig. 47. Curvas de Kaplan-Meier para tiempo libre de enfermedad según la intensidad de expresión de p-AKT.

2.17.5 Densidad microvascular (DMV)

Se ha realizado en 39 tumores el análisis de expresión de la densidad microvascular. Corresponde a una muestra representativa de tumores de todos los tipos histológicos, grados y estadios, con los que se pretende inferir el comportamiento del resto de la población. En nuestra serie no existe un comportamiento diferente en función de los resultados obtenidos en los 2 grupos de estratificación (Tabla 47).

Tabla 47. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor densidad microvascular.

Marcador DMV	6 meses n PR (EE)	18 meses n PR (EE)	36 meses n PR (EE)	72 meses n PR (EE)	P	HR (IC) 95%
Baja expresión	15 94,1%(5,7)	12 87,4%(8,4)	8 78,7%(11,2)	2 8,7%(11,2)		1
Alta expresión	15 88,2%(7,8)	14 82,4%(9,2)	7 82,4%(9,2)	4 82,4%(9,2)	0,976	1,03 (0,21-5,09)

2.17.6 Expresión de Ki67.

Para el marcador de proliferación celular Ki67 se establece como punto de corte la inmunotinción de al menos 20% de los núcleos tumorales para considerarlo positivo, de tal forma que cifras menores se consideran negativas. El comportamiento de los grupos es significativamente distinto ($p=0,048$). Obtenemos un $HR=2,70$ con IC 95% (1,05-6,97), $p=0,04$, por lo que los pacientes con tumores que marcan Ki67 tienen 2,7 veces más probabilidades de tener enfermedad a los 72 meses del seguimiento con respecto a los

negativos. Los datos se expresan en la tabla 48 y las curvas de Kaplan-Meier correspondientes en la figura 48.

Tabla 48. Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Factor Ki 67.

Marcador Ki67	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
(-) < 20%	105 91,5%(2,6)	87 80,8%(3,7)	67 76,7%(4,0)	41 66,7%(5,0)		1
(+) ≥ 20%	7 78,8%(13,4)	5 56,3%(16,5)	3 56,3%(16,5)	0 28,1%(21,5)	0,04	2,70 (1,05-6,97)

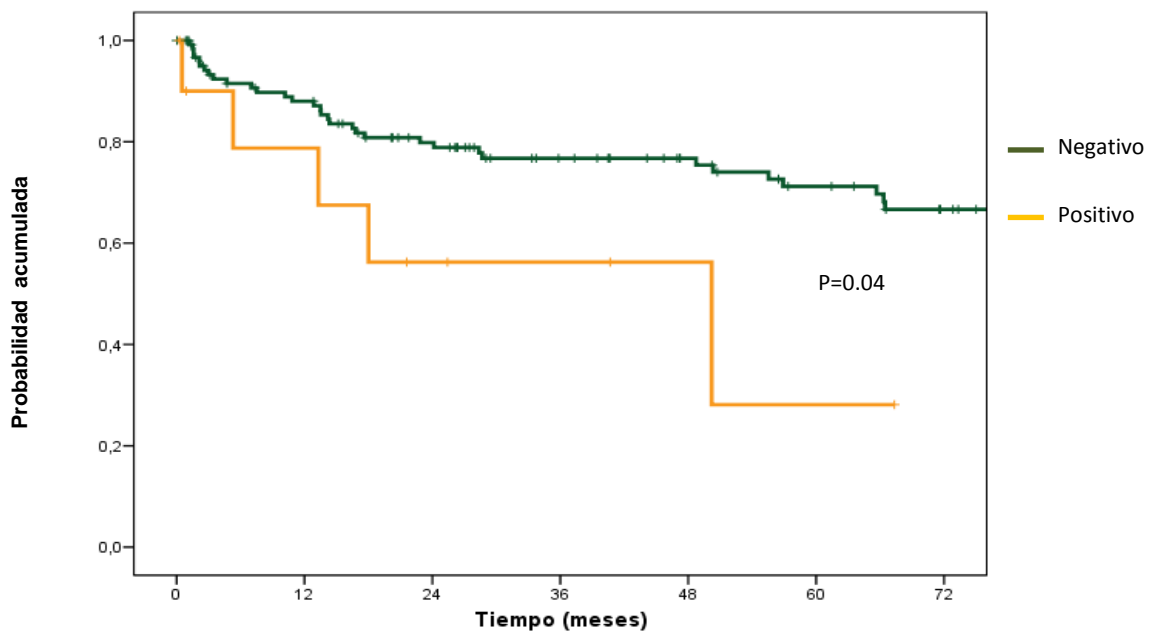


Fig. 48. Curvas de Kaplan-Meier para intervalo libre de enfermedad según la inmunexpresión de Ki67.

2.17.7 Expresión de Bcl-2.

En la tinción de las células tumorales para la proteína bcl-2 se establece como punto de corte el 10%. Estratificando nuestra serie según su expresión ($\geq 10\%$) o no ($< 10\%$), no observamos un comportamiento significativamente distinto entre ambos grupos. Se recogen todos los datos en la tabla 49.

Tabla 49. *Probabilidad de no recidiva de los pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal a los 6, 18, 36 y 72 meses para marcadores predictivos. Bcl-2.*

Marcador Bcl-2	6 meses n Pr (EE)	18 meses n Pr (EE)	36 meses n Pr (EE)	72 meses n Pr (EE)	P	HR (IC) 95%
(-)	34 91,9%(4,5)	28 83,4%(6,2)	21 76,7%(7,3)	11 67,6%(8,8)		1
(+)	7 90,0%(3,2)	5 77,2%(4,5)	3 74,5%(4,7)	0 62,9%(5,9)	0,92	0,96 (0,49-1,90)

2.18 ANÁLISIS ESTRATIFICADO DE LAS VARIABLES.

Analizamos las relaciones existentes entre las diferentes variables clínicas, histológicas y la expresión de los distintos marcadores, calculando su significación estadística y los riesgos relativos (HR) para dichas relaciones, tanto para mortalidad como para intervalo libre de enfermedad.

2.18.1 **CAIX**

No se encuentra en nuestra serie ninguna relación significativa de CAIX con el resto de variables estadísticas cuando se calculan los riesgos relativos para mortalidad. Sin embargo, sí existe cuando se calculan para intervalo libre de enfermedad, teniendo significación estadística en el caso del estadio T₁ y de la expresión de PTEN citoplasmático. Se muestran en la tabla 50 únicamente las variables en las que se ha encontrado una relación y su significación estadística. El estadio pT₁ muestra un comportamiento distinto al resto de estadios, así como la expresión PTEN citoplasmático frente a la no expresión del mismo cuando estratificamos por CAIX en relación al intervalo libre de enfermedad. La probabilidad de recidiva tumoral, en pacientes intervenidos con diagnóstico de CCR, está aumentada de forma significativa para tumores que expresan CAIX en estadio pT₁, e igualmente en tumores con expresión positiva de PTEN citoplasmático, en 2,55 veces en el primer caso y en 7,57 veces en el segundo. Otras variables como el grado nuclear y la densidad microvascular muestran una interacción con CAIX aunque sin significación estadística.

Tabla 50. Análisis estratificado para CAIX.

Variable Estratificada	HR para ILE	P	IC 95%
-Estadio pT			
pT ₁	2,55	0,04	(1,05-6,19)
pT ₂	1,05	0,96	(0,21-5,30)
-PTEN citoplasmático			
(+)	7,57	0,03	(1,25-45,72)
(-)	0,99	0,98	(0,43- 2,27)

2.18.2 VEGF

Ponemos de manifiesto múltiples interrelaciones entre la inmunoexpresión de este marcador (expresión positiva) frente al resto de variables, tanto en el análisis de mortalidad como en el tiempo libre de enfermedad. Existe una relación estadísticamente significativa ($p=0,05$) cuando estratificamos por estadio para los estadios pT₁ en el cálculo del riesgo relativo para mortalidad (HR=3,03). Hallamos una relación entre la expresión de VEGF y la mortalidad ($p=0,009$) en los carcinomas de células claras y en los carcinomas de tipo papilar ($p=0,05$) con HR de 3,60 y 7,42 en cada caso respectivamente. El riesgo de recidiva también se encuentra aumentado en los carcinomas de células claras (HR=2,49; $p=0,05$) en los tumores que expresan VEGF. Así mismo, existe una relación significativa para mortalidad para los CCR VEGF (+) en los tumores de alto grado (3 y 4 de Fuhrman) mayor (HR=4,48) que en los de bajo grado (HR=3,47), aunque en ambos existe de forma estadísticamente significativa.

Objetivamos en nuestra serie un mayor riesgo de mortalidad cuando se expresa VEGF en los tumores que no expresan Bcl-2 (HR=4,03; p=0,004).

Cuando estratificamos por la intensidad de expresión de PTEN se da una relación significativa en el cálculo de HR tanto para mortalidad como para tiempo libre de enfermedad; obtenemos una mayor significación estadística en los tumores que no expresan de forma intensa PTEN frente a los que si lo hacen para CCR con expresión de VEGF. Igualmente en estos tumores, la mortalidad es discretamente mayor en aquellos con menor porcentaje de células que expresan PTEN ($\leq 75\%$ vs $>75\%$) (tabla 51).

Similar situación obtenemos para mortalidad e intervalos libres de enfermedad cuando estratificamos por expresión o no de PTEN citoplasmático, con significación estadística ($p < 0,001$) y ($p = 0,002$) respectivamente en los tumores que no lo expresan. Por tanto, el pronóstico es significativamente peor tanto para mortalidad como para riesgo de recidiva en aquellos tumores que expresan VEGF y son PTEN citoplasmático (-).

En la estratificación de la variable p-AKT obtenemos un HR con p significativa ($p = 0,03$) únicamente para mortalidad, pero no para ILE en el grupo de tumores que no expresan p-AKT frente a los grupos que lo hacen en menos o más del 50%.

Finalmente también se obtiene una relación significativa de VEGF cuando se calcula el HR para mortalidad ($p = 0,004$) e intervalo libre de enfermedad en los tumores que expresan CAIX, no siendo significativo cuando lo hacen (tabla 51).

Tabla 51. Análisis estratificado para la expresión de VEGF.

Variable Estratificada	HR para mortalidad		HR para ILE	
	P	IC 95%	P	IC 95%
-Estadio T				
T ₁	0,05	3,03 (1,00-9,21)	-----	
T ₂	0,78	1,24 (0,27-5,63)	-----	
-Tipo tumoral				
C.Células Claras	0,009	3,60 (1,38-9,41)	0,05	2,49 (1,00-6,19)
Papilares	0,051	7,42 (0,99-55,59)	0,44	2,43 (0,25-23,48)
-Grado nuclear				
Bajo grado	0,08	4,48 (0,85-23,74)	-----	
Alto grado	0,01	3,47 (1,32-9,13)	-----	
-Bcl-2				
Bcl-2 (+)	0,12	4,04 (0,69-23,73)	0,19	3,10 (0,58-16,54)
Bcl-2 (-)	0,004	4,03 (1,55-10,48)	0,10	2,30 (0,86-6,12)
-Expresión de PTEN				
No intenso	0,001	5,03 (1,88-13,42)	0,02	3,24 (1,17-8,99)
Intenso	0,36	2,17 (0,42-11,21)	0,44	1,89 (0,38-9,45)
≤ 75%	0,01	4,52 (1,35-15,13)	0,02	3,91 (1,21-12,65)
>75%	0,05	3,30 (1,02-10,75)	0,55	1,46 (0,42-5,05)
-Expresión de PTEN citoplasmático				
PTEN citopl (+)	0,43	2,68 (0,24-30,36)	0,56	0,04 (0,50-2155,81)
PTEN citopl (-)	<0,001	5,11 (2,07-12,61)	0,002	3,88 (1,61-9,33)
-Expresión de P-AKT				
PAKT (-)	0,03	3,43 (1,17-10,05)	-----	
≤ 50%	0,08	5,04 (0,84-30,21)	-----	
>50%		Indeterminado	-----	
-Expresión de CAIX				
CAIX (+)	0,004	4,13 (1,57-10,85)	0,01	4,05 (1,38-11,86)

2.18.3 PTEN

No observamos interacciones entre el porcentaje de células que expresan PTEN con el resto de variables para cálculo de HR de mortalidad o de intervalo libre de enfermedad. Tampoco hallamos relaciones cuando lo hacemos con la intensidad de expresión. En el caso de la expresión de PTEN citoplasmático sí obtenemos interacciones para mortalidad, observando una interacción protectora en tumores de alto grado, que no es significativa en los de bajo, siendo una tendencia sin significación estadística en el cálculo de riesgo para ILE ($p=0,051$). Cuando estatificamos por expresión de CAIX, también obtenemos una tendencia a un menor riesgo de recidiva en los tumores PTEN citoplasmático (+) que no expresan CAIX ($p=0,05$). De forma similar, la expresión de PTEN citoplasmático en tumores que no expresan Bcl-2 es un factor protector de recidiva/metástasis, con significación estadística ($p=0,04$). No obtenemos otras interacciones con el resto de variables (tabla 52).

Tabla 52. *Análisis estratificado para la expresión de PTEN citoplasmático.*

Variable Estratificada	HR para mortalidad		HR para ILE	
	P	IC 95%	P	IC 95%
-Grado tumoral				
Bajo Grado	0,67	0,63 (0,08-5,28)	0,25	0,30 (0,04-2,33)
Alto Grado	0,04	0,22 (0,05-0,96)	0,05	0,34 (0,12-1,00)
-Expresión de CAIX				
CAIX (-)		-----	0,05	0,20 (0,25-23,48)
CAIX (+)		-----	0,51	1,50 (0,45-4,95)
-Expresión de Bcl-2				
Bcl-2 (-)	0,13	0,03 (0,00-2,72)	0,04	0,12 (0,02-0,88)
Bcl-2 (+)	0,42	1,94 (0,39-9,65)	0,69	1,30 (0,36-4,60)

2.18.4 P-AKT

En nuestra serie no vemos interacciones entre la expresión tisular de p-AKT y las variables clínicas o histológicas tradicionales, sin embargo sí existen con otros marcadores. En el análisis estratificado, la expresión de p-AKT>50% es un importante factor de riesgo de muerte para aquellos tumores que expresan PTEN de forma intensa (HR=12,08; p=0,002), sin embargo no encontramos relación para predecir el riesgo de recidiva de la enfermedad. La expresión de p-AKT>50% es también un factor de riesgo de muerte (HR=6,54; p=0,002) y de recidiva de la enfermedad (HR=4,50; p=0,006) para aquellos tumores con un porcentaje de expresión \leq 75% de PTEN.

El riesgo de muerte se halla significativamente elevado (HR=3,46; p=0,02) en pacientes con tumores sin expresión de PTEN citoplasmático para aquellos con expresión p-AKT>50%.

En la estratificación para VEGF el riesgo de recidiva está muy elevado, con significación estadística, para aquellos pacientes con tumores que marcan VEGF y expresan p-AKT en >50% de sus células (HR=19,88; p=0,04) (tabla 53).

Tabla 53. Análisis estratificado para la expresión de p-AKT > 50% de las células.

Variable Estratificada	HR para mortalidad		HR para ILE	
	P	IC 95%	P	IC 95%
-Intensidad de PTEN				
Intenso		12,08		-----
	0,002	(2,43-60,07)		
No intenso		0,35		-----
	0,31	(0,05-2,67)		
-Expresión PTEN				
≤75%		6,54	4,50	
	0,002	(2,02-21,17)	0,006	(1,54-13,16)
>75%		1,58	1,00	
	0,67	(0,20-12,47)	1,00	(0,13-7,58)
-Expresión de PTEN citoplasmático				
(+)		6,22		-----
	0,14	(0,56-68,72)		
(-)		3,46		-----
	0,02	(1,25-9,53)		
-Expresión de VEGF				
(-)		-----	2,53	
			0,06	(0,95-6,75)
(+)		-----	19,88	
			0,04	(1,23-322,45)
-Expresión de CAIX				
(-)		-----	0,20	
			0,05	(0,04-0,98)
(+)		-----	1,50	
			0,51	(0,45-4,95)

2.18.5 Ki67

Múltiples son las interacciones de este marcador con el resto de variables tanto para influir en la supervivencia como en el tiempo libre de enfermedad. Se observa una relación con significación estadística en la estratificación por estadio, de tal forma que encontramos un HR=5,22 (p=0,004) para estadio pT₁ (pT_{1a} + pT_{1b}) para mortalidad, sin significación estadística en el resto. Igualmente Ki67 tiene influencia en la mortalidad (HR=3,06; p=0,04) y en la aparición de enfermedad tras cirugía (HR=6,24; p=0,001) en los carcinomas de células claras y no en el resto de los tipos histológicos.

Se aprecia un riesgo relativo elevado de mortalidad de aquellos tumores Ki67 (+) que no expresan bcl-2 (HR=4,40; p=0,004).

La influencia de la expresión de Ki67 en el riesgo de mortalidad para CCR que expresen PTEN de forma intensa es mayor (HR=6,71; p=0,01) que para aquellos que lo expresan de forma débil (HR=3,88; p=0,03). Similar hallazgo obtenemos con el riesgo de recidiva (HR=7,32; p=0,01) e igualmente se ve influido el riesgo de mortalidad y el riesgo de recidiva para los tumores con elevado porcentaje de células ($\geq 75\%$) que expresan PTEN (HR=5,83; p=0,001 y HR=3,16; p=0,03 respectivamente). La expresión de Ki67 es un claro factor de riesgo para mortalidad en los tumores que no expresan PTEN citoplasmático (HR=5,64; p=0,001), no alcanzando significación estadística su influencia en el riesgo de recidiva en este mismo grupo (HR=2,83; p=0,06).

La expresión de Ki67 tiene influencia sobre la supervivencia cuando se estratifica para p-AKT únicamente en tumores sin expresión de este marcador (HR=5,10; p=0,01) y no alcanza significación en el grupo de expresión de <50% (HR=5,15; p=0,08).

Al estratificar por expresión o no de CAIX, el riesgo de mortalidad para aquellos carcinomas de células renales CAIX (+) se incrementa de forma estadísticamente significativa (HR=5,20; p=0,001) cuando expresan Ki67. Todos los datos se muestran en la tabla 54.

Tabla 54. Análisis estratificado para la expresión de Ki67.

Variable Estratificada	HR para mortalidad		HR para ILE	
	P	IC 95%	P	IC 95%
-Estadio pT				
pT ₁	0,004	5,22 (1,72-15,84)	-----	-----
pT ₂	0,55	1,67 (0,32-8,62)	-----	-----
-Tipo histológico				
C.Células Claras	0,001	6,24 (2,20-17,69)	0,04	3,06 (1,05-8,96)
Papilares	0,88	0,85 (0,69-7,39)	0,94	1,09 (0,12-9,91)
-Expresión de Bcl-2				
(+)	0,10	5,98 (0,69-51,58)	-----	-----
(-)	0,004	4,40 (1,60-12,16)	-----	-----
-Expresión de Intensidad de PTEN				
No intenso	0,03	3,88 (1,12-13,37)	0,58	1,50 (0,36-6,33)
Intenso	0,01	6,71 (1,49-30,26)	0,01	7,32 (1,60-33,58)
- Expresión de PTEN				
≤ 75%	-----	-----	-----	-----
>75%	0,001	5,83 (2,05-16,54)	0,03	3,16 (1,14-8,74)
-Expresión de PTEN citoplasmático				
(+)	0,15	5,81 (0,52-64,99)	0,34	2,96 (0,33-26,56)
(-)	0,001	5,64 (2,04-15,65)	0,06	2,83 (0,97-8,22)
-Expresión de P-AKT				
(-)	0,01	5,10 (1,45-18,00)	-----	-----
≤ 50%	0,08	5,15 (0,82-23,40)	-----	-----
>50%	0,54	2,04 (0,21-19,94)	-----	-----
-Expresión de CAIX				
(-)	-----	-----	-----	-----
(+)	0,001	5,20 (1,94-13,91)	-----	-----
-Expresión de VEGF				
(-)	0,02	4,37 (1,25-15,33)	0,04	3,68 (1,06-12,81)
(+)	0,09	3,61 (0,81-16,22)	0,04	5,05 (1,12-22,74)

3. ANÁLISIS MULTIVARIABLE.

Se realiza inicialmente análisis multivariable de la serie incluyendo todos los tipos histológicos, buscando la influencia de las variables en supervivencia y tiempo libre de enfermedad. Posteriormente se realiza este mismo modelo de análisis únicamente para los carcinomas de células claras.

3.1. ANÁLISIS MULTIVARIABLE PARA ESTUDIO DE SUPERVIVENCIA EN PACIENTES CON CARCINOMA RENAL.

La tabla 55 muestra el modelo de análisis multivariable de supervivencia para las variables con significación en el estudio univariable. En esta serie, el tipo tumoral no es un factor pronóstico en cuanto a supervivencia, como tampoco lo son la edad (HR=1,02; p=0,38) ni la afectación ganglionar (pN) según el estadio TNM de la clasificación de la UICC de 2002 (HR=0,63; p=0,57). El **grado nuclear** se comporta como un factor pronóstico en el análisis multivariable, de tal forma que los tumores de alto grado tienen mayor probabilidad de muerte que los de bajo grado (HR=4,57; p=0,002).

El **estadio tumoral pT** (TNM UICC, 2002), es un factor pronóstico independiente en nuestra serie; cuando agrupamos los estadios pT_{1a} + pT_{1b} y tomamos este grupo como referencia, los pT₂ tienen 5.04 veces más probabilidad de fallecimiento (p=0,01), los pT_{3a} 6,15 veces (p=0,003) y los de mayor estadio (pT_{3b} y pT₄) 6,13 (p=0,01).

En lo referente a los marcadores inmunohistoquímicos estudiados, únicamente la expresión de **VEGF** y la expresión en más del 50% de las células de **p-AKT** aparecen como factores independientes para predecir

supervivencias en pacientes con diagnóstico de carcinoma de células renales. La probabilidad de muerte de los pacientes cuyos tumores expresan VEGF, es 4,83 veces mayor ($p=0,002$) que aquellos cuyos tumores no expresan este marcador. Así mismo, la expresión de p-AKT en más de un 50% de las células es un factor pronóstico adverso independiente ($HR=3,81$; $p=0,036$), no así la expresión en $<50\%$ de las células ($HR= 1,06$; $p=0,92$). Se muestran los datos en la tabla 55.

Tabla 55. **Modelo multivariable de Cox para evaluar factores pronósticos independientes de supervivencia en pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal.**

Variable	HRa	IC 95%*	P
- Edad			
≤61	1		
>61	1,02	(0,98-1,05)	0,38
-Estadio T			
T1	1		
T2	5,04	(1,39-18,28)	0,01
T3a	6,15	(1,82-20,80)	0,003
>T3a	6,3	(1,44-26,01)	0,01
-Estadio N			
pN0	1		
>N1-2	0,63	(0,13-3,15)	0,57
-Grado			
1-2	1		
3-4	4,57	(1,71-12,24)	0,002
-Expresión p-AKT			
P-AKT (-)	1		
P-AKT (≤50%)	1,06	(0,36-3,10)	0,92
P-AKT (>50%)	3,81	(1,09-13,35)	0,04
-Expresión VEGF			
VEGF (-)	1		
VEGF (+)	4,83	(1,77-13,19)	0,002
- Expresión Ki 67			
Ki 67 (-)	1		
Ki 67 (+)	1,06	(0,31-3,71)	0,93

HRa: Hazard Ratios ajustados
 IC: Intervalo de confianza
 * Datos ajustados por edad, estadio T, estadio N, grado nuclear, expresión de P-AKT, VEGF y Ki 67.

3.2. ANÁLISIS MULTIVARIABLE PARA ESTUDIO DE INTERVALO LIBRE DE ENFERMEDAD EN PACIENTES CON CARCINOMA RENAL.

Realizados modelos de análisis multivariable para el total de los tumores estudiados, no encontramos diferencias en cuanto a factores clínicos, edad de los pacientes, ni a la forma de presentación de los tumores, en relación con el tiempo libre de enfermedad tras la cirugía realizada. En la valoración de los factores patológicos clásicos, ni el tipo histológico ni el estadio pN se comportan como factores pronósticos. Sin embargo, el **estadio pT** se muestra como factor predictivo de recidiva tumoral, de tal forma que los tumores en estadio pT₂ tienen un probabilidad de recidiva 3.49 veces superior a los pT₁ (p=0,01). El riesgo de recidiva de los pT_{3a} y >pT_{3a} está aumentado pero sin alcanzar significación estadística (HR=2,36 p=0,06 y HR=2,87 p=0,06 respectivamente). El **grado nuclear** también mantiene su significación en el modelo multivariable (HR=3,81; p<0,001).

Se comportan como marcadores pronósticos para predecir recurrencia, el **VEGF** (HR=2,63; p=0,04) y la expresión de **PTEN citoplasmático** (HR=3,50; p=0,01). Ninguno del resto de biomarcadores que en el estudio univariable se actúan como factor pronóstico para intervalo libre de enfermedad (Ki67, intensidad de PTEN, porcentaje de células que expresan P-AKT) adquieren significación en el modelo multivariable (tabla 56).

Tabla 56. Modelo multivariable de Cox para evaluar factores pronósticos independientes de intervalo libre de enfermedad en pacientes con diagnóstico de adenocarcinoma renal.

Variable	HRa	IC 95%*	P
- Edad			
≤61	1		
>61	1,02	(0,99-1,05)	0,14
-Estadio pT			
pT1	1		
pT2	3,49	(1,31-9,35)	0,01
pT3a	2,36	(0,99-5,64)	0,053
pT3b-T4	2,87	(0,95-8,65)	0,06
-Estadio N			
pN0	1		
pN1-2	2,17	(0,66-7,13)	0,20
-Grado			
1-2	1		
3-4	3,81	(1,80-8,08)	<0,001
-Expresión de P-AKT			
PAKT (-)	1		
PAKT (≤50%)	1,15	(0,47-2,84)	0,76
PAKT (>50%)	2,43	(0,82-7,24)	0,11
-Expresión de VEGF			
VEGF (-)	1		
VEGF (+)	2,63	(1,07-6,47)	0,04
- Expresión de PTEN citoplasmático			
PTEN citoplasmático (-)	1		
PTEN citoplasmático (+)	3,50	(1,32-9,24)	0,01

HRa: Hazard Ratios ajustados
 IC: Intervalo de confianza
 * Datos ajustados por edad, estadio T, estadio N, grado nuclear, expresión de PAKT, VEGF y PTEN citoplasmático.

3.3 ANÁLISIS MULTIVARIABLE PARA ESTUDIO DE SUPERVIVENCIA EN PACIENTES CON CARCINOMA RENAL DE CÉLULAS CLARAS.

Realizado el modelo multivariable únicamente para los carcinomas de células claras de nuestra serie, obtenemos unos datos discretamente diferentes a los hallados con la totalidad de los tipos histológicos. El **estadio tumoral** es una variable que se comporta como factor independiente en los carcinomas en estadio T3a ($p=0,008$, $HR=5,27$), mientras que en el resto de estadios no llega a tener significación ($p=0,17$; $HR=2,76$ para los pT_2 y $p=0,08$; $HR=3,93$ para los pT_{3b-4}). El **grado nuclear** actúa como variable con significación estadística ($p=0,001$; $HR=5,95$), como factor de mal pronóstico para los tumores de alto grado, con respecto a los de bajo grado. En nuestra serie percibimos la **expresión de p-AKT** en un porcentaje alto de células ($>50\%$) también como factor pronóstico independiente con respecto a la no expresión del mismo ($p=0,02$; $HR=5,05$), no así cuando la expresión es menor que este porcentaje de células ($p=0,89$; $HR=1,09$).

Cuando observamos la **expresión de VEGF**, obtenemos igualmente una significación estadística de este marcador, que hace que se comporte como factor pronóstico independiente con respecto a la no expresión del mismo ($p=0,02$; $HR=3,79$). Destacamos que CAIX tiene un efecto clínico relevante ($HR=3,60$) en cuanto a la supervivencia de los pacientes aunque sin tener significación estadística ($p=0,24$) (tabla 57).

El resto de marcadores estudiados, no se comportan de forma independiente en el modelo multivariable para supervivencia en los carcinomas de células claras.

Tabla 57. Modelo multivariable de comportamiento para supervivencia en pacientes con carcinoma renal de células claras.

Variable	HRa	IC 95%*	P
-Estadio T			
T1a-b	1		
T2	2,76	(0,64-11,90)	0,17
T3a	5,27	(1,55-17,93)	0,008
T3b-4	3,93	(0,85-18,18)	0,08
-Grado			
1-2	1		
3-4	5,95	(2,02-17,51)	0,001
-Expresión p-AKT			
PAKT (-)	1		
P-AKT (\leq 50%)	1,09	(0,35-3,41)	0,89
P-AKT (>50%)	5,05	(1,27-20,17)	0,02
-Expresión VEGF			
VEGF (-)	1		
VEGF (+)	3,79	(1,26-11,41)	0,02
- Expresión CAIX			
CAIX (-)	1		
CAIX (+)	3,59	(0,43-30,23)	0,24

HRa: Hazard Ratios ajustados
 IC: Intervalo de confianza
 * Datos ajustados por estadio T, grado nuclear, expresión de P-AKT y CAIX

3.4 MODELO MULTIVARIABLE PARA INTERVALO LIBRE DE ENFERMEDAD EN PACIENTES CON CARCINOMA RENAL DE CELULAS CLARAS.

Observamos en el análisis multivariable algunas diferencias de comportamiento con respecto a la supervivencia. En relación con las variables clínicas clásicas, el **estadio pT** tumoral se comporta como factor pronóstico, tanto para los estadios T₂ (p=0,03; HR=3,55) como para los T_{3a} (p=0,04; HR=2,54); pero para los estadios T_{3b-4} obtenemos una tendencia sin llegar a tener significación estadística (p=0,08; HR=3,31). El **grado nuclear** también se comporta como factor pronóstico para los tumores de alto grado con respecto a los de bajo grado (p<0,001; HR=4,69).

En relación con los marcadores inmunohistoquímicos estudiados, obtenemos algunas diferencias con respecto a los obtenidos para la supervivencia. El **p-AKT** también se comporta como pronóstico cuando se expresa en más del 50% de las células al compararlo con la no expresión del mismo (p=0,03; HR=4,12), no así cuando se expresa en menos del 50% de las células tumorales (p=0,78; HR=0,86). La inmunoexpresión de VEGF no es pronóstico, al contrario de lo que sucedía en relación con la supervivencia (p=0,15; HR=2,19). Contrariamente, **CAIX** sí aparece como factor independiente para predecir intervalo libre de enfermedad (p=0,02; HR=4,90) (tabla 58).

El resto de variables clínicas o de marcadores estudiados no muestran significación para predecir tiempo libre de enfermedad en los carcinomas de células claras.

Tabla 58. **Modelo multivariable de comportamiento para intervalo libre de enfermedad en pacientes con carcinoma renal de células claras.**

Variable	HRa	IC 95%*	P
-Estadio T			
T1	1		
T2	3,55	(1,17-10,79)	0,03
T3a	2,54	(1,04-6,20)	0,04
T3b-4	3,31	(0,87-12,69)	0,08
-Grado			
1-2	1		
3-4	4,69	(2,03-10,82)	<0,001
-Expresión p-AKT			
(-)	1		
≤50%	0,86	(0,30-2,45)	0,78
>50%	4,12	(1,15-14,78)	0,03
- Expresión CAIX			
CAIX (-)	1		
CAIX (+)	4,90	(1,31-18,33)	0,02
- Expresión VEGF			
VEGF (-)	1		
VEGF (+)	2,19	(0,76-6,26)	0,15

HRa: Hazard Ratio ajustados
 IC: Intervalo de confianza
 * Datos ajustados por estadio T, grado nuclear, expresión de CAIX y VEGF

DISCUSIÓN

IV.- DISCUSIÓN.

A pesar de los avances de los últimos años relacionados con el carcinoma de células renales, 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 que en la actualidad emergen con fuerza en el adenocarcinoma renal. 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 CCR. De hecho existe una tendencia prácticamente plana de la curva de mortalidad a lo largo de los últimos 30 años, sin que el mayor número de CCR diagnosticados en estadios iniciales haya dado lugar a un descenso de la mortalidad de este tumor, como se puede apreciar en la figura 48 ²⁹⁰. Esta gráfica, basada en estadísticas de EEUU, puede ser superponible al resto de países.

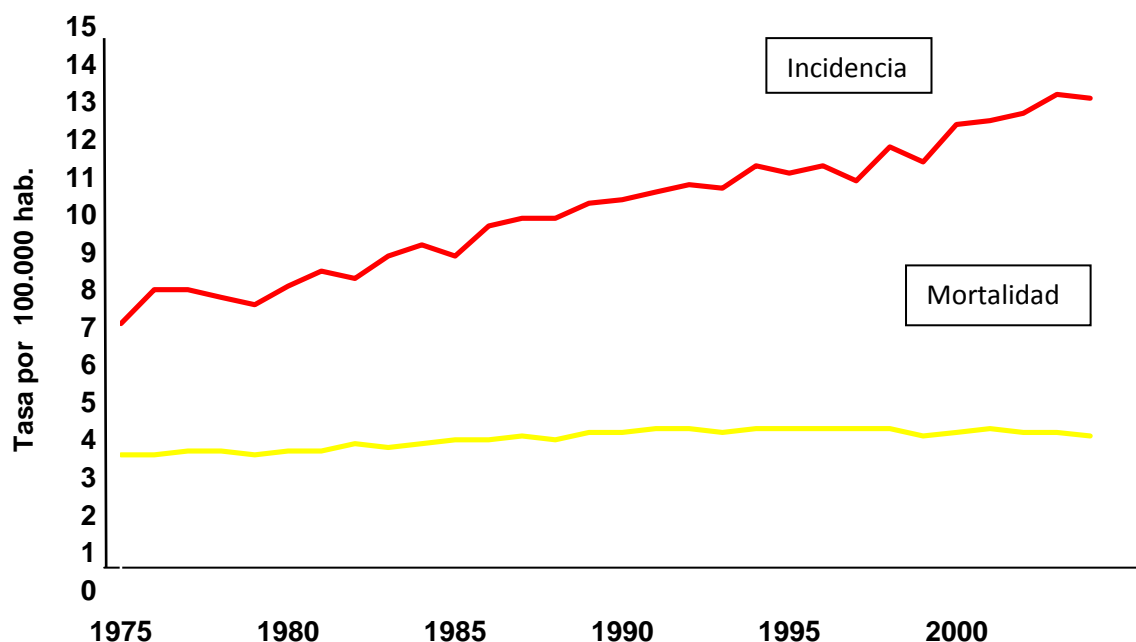


Fig. 48. Evolución de la incidencia y mortalidad del CCR en EEUU.

En nuestro estudio, la supervivencia cáncer-específica global del CCR a 72 meses es del 78,4%. Cuando estratificamos por estadio pT, el 100% de nuestros pacientes están vivos en estadios pT_{1a}, el 87,3% en estadio pT_{1b}, el 69,4% en pT₂, el 73,3% en estadio pT_{3a}, el 33,3% en pT_{3b} y el 0% en estadio pT₄, tras este periodo de tiempo; dichos datos van en concordancia con lo descrito en la literatura. Así, a los 5 años se describen tasas de supervivencia del 75-95% para pacientes con enfermedad organoconfinada, del 65-80% para tumores que afectan la grasa perirrenal, del 40-60% para tumores con afectación de vena cava y <5% para aquellos que muestran afectación de otros órganos, localmente o a distancia¹⁹⁷.

En el análisis univariable para cálculo de supervivencia en CCR, obtenemos diferencias significativas de todos los estadios al comparar la evolución con respecto a los T₁ (T_{1a}+T_{1b}) con riesgos relativos o HR de mortalidad de entre el 5,66

y el 25,06; los pT₂ obtienen un HR=5,66 (p=0,006); los T_{3a} tienen un HR de 7,82 (p=0,001) y los tumores en estadios T_{3b}-T₄ tienen un riesgo relativo de 25,06 (p<0,001), todos ellos con significación estadística. En el análisis multivariable persiste la significación estadística en todos los estadios para el cálculo de supervivencia: pT₂ (HR=5,04; p=0,01); pT_{3a} (HR=6,15; p=0,003) y pT_{3b}-T₄ (HR=6,3; p=0,01).

Por lo tanto el estadio tumoral (pT) según la clasificación TNM de 2002 se confirma en nuestra serie como un factor pronóstico de supervivencia para los CCR.

En el caso del estadio en el cálculo del intervalo libre de enfermedad (probabilidad de recidiva o metástasis a distancia tras tratamiento quirúrgico) obtenemos datos similares, con significación estadística tanto en el análisis uni como multivariable. El HR para el cálculo de los intervalos libres de enfermedad en el análisis multivariable es de 2,18 (p=0,08) lo que implica una tendencia aunque sin lograr significación estadística para los estadios pT₂; de 3,02 (p=0,006) para el estadio T_{3a} y de 8,39 (P<0,001) para los estadios T_{3b}-T₄. El estadio tumoral pT según la clasificación TNM de 2002 también se confirma como un factor pronóstico independiente para predecir intervalo libre de enfermedad.

Valorados aisladamente los carcinomas de células claras obtenemos similares resultados. En el análisis multivariable para cálculo de supervivencia, el estadio pT₂ no se diferencian de los pT₁ (pT_{1a}+_{1b}) (HR= 2,76; p=0,17). El HR para mortalidad de los pT_{3a} es de 5.27 (p=0,008) y para los pT_{3b}-T₄ es de 3.93 (p=0,08) marcando una tendencia a tener un peor pronóstico pero sin alcanzar significación estadística. El análisis multivariable para predecir tiempo libre de enfermedad en los CCR de células claras muestra significación en los estadios pT₂ y pT_{3a} con HR=3,55 (p=0,03) y de 2,54 (p=0,04), siendo de 3,31 (p=0,08) para los tumores en estadio pT_{3b}-T₄, no estadísticamente significativa.

En nuestro estudio el comportamiento de los CCR en estadio T_{1a} y T_{1b} no difieren significativamente, por lo que optamos por asociarlos para la comparación de supervivencias e intervalos libres de enfermedad con el resto de los grupos. La

diferencia entre ambos grupos sigue vigente, fundamentalmente por el hecho de la tendencia a realizar cirugía conservadora en el cáncer renal. Leibovich²⁹¹ revisa 841 pacientes sometidos a nefrectomía radical y 91 pacientes con tumores de 4-7 cm. Tras ajustar para otros factores pronósticos como afectación de grasa perirrenal, de vena renal, ganglios linfáticos, grado nuclear, necrosis histológica y subtipo histológico no encontró diferencias estadísticas entre ambos grupos. Otros informes como el de Patard y col.²⁹² apoyan estos datos tras confirmar unos resultados similares en un estudio multicentrico. Probablemente, como indican otros autores, el tamaño no sea tan importante desde el punto de vista pronóstico, ni como punto de corte para la realización de cirugía conservadora de nefromas, como la extirpación total del tumor con márgenes libres^{293, 294}

La afectación ganglionar en nuestra serie fue del 61%, si bien probablemente sea un porcentaje sesgado por la selección de los pacientes. En el análisis multivariable sólo encontramos diferencias pronósticas significativas en los tumores en estadio pN₂ con respecto a los pN₀ para predecir supervivencia (HR=8,27; p=0,001), no así en los pN₁ (HR=1,14; p=0,9). En nuestro centro solo realizamos linfadenectomía hiliar con intención pronóstica, y únicamente cuando percibimos la existencia de masas sospechosas, se realiza la exéresis de las mismas. A pesar de que desde la sexta edición de la clasificación TNM se especifica que la linfadenectomía regional debería incluir al menos 8 ganglios, pocos son los centros que cumplen estos requisitos. Para algunos autores (Terrone)²⁹⁵, no solo la afectación ganglionar, sino también su densidad se confirma como factor pronóstico independiente, sin encontrar diferencias entre pN₁ y pN₂. Sin embargo Canfield²⁹⁶ sí encuentra supervivencias significativamente peores en pacientes con estadios pN₂ con respecto a los pN₁. Vasselli²⁹⁷ refiere una mayor supervivencia en pacientes sin evidencia preoperatoria de afectación ganglionar en comparación con los que si la tienen y la realización de una linfadenectomía mínima o extendida mejoraba la supervivencia con respecto a los que tenían una enfermedad que se consideró irresecable. El estudio EORTC 30881 comparó 752 pacientes con enfermedad clínicamente localizada randomizada a nefrectomía con o sin linfadenectomía

estándar, sin obtener diferencias de progresión o supervivencia entre ambos grupos tras 5 años de seguimiento ¹⁶⁷.

En nuestro estudio encontramos en el análisis univariable diferencias significativas para predecir recidiva de la enfermedad, local o a distancia, en los pN₂ (HR=10,43; p<0,001) con respecto a los pN₀, no así en los pN₁. En el multivariable encontramos diferencias no significativas para predecir mortalidad (HR=0,6; p=0,57) y tiempo libre de enfermedad (HR=2,17; p=0,20) para la totalidad de los CCR. No existen diferencias en el análisis multivariable cuando calculamos los modelos para mortalidad y probabilidad de recidiva en los carcinomas de células claras.

El grado nuclear es uno de los factores pronósticos más aceptados en la actualidad. En nuestra serie se comporta como tal factor independiente tanto para la valoración de mortalidad como de tiempo libre de enfermedad en análisis uni y multivariable para los CCR de manera global y para el CCR de células claras en particular.

Dado el similar comportamiento de los G1 y G2 decidimos agruparlos y compararlos con los tumores de alto grado (G3 y G4) con lo que ganábamos potencia estadística. En el modelo univariable obtenemos un HR=7,73 (p<0,001) para el cálculo de probabilidades de supervivencia y HR=4,94 (p<0,001) para el de tiempo libre de enfermedad tomando como referencia los tumores de bajo grado. En el modelo multivariable, los resultados son similares, HR=4,57 (p=0,002) para el cálculo de supervivencia y HR=3,81 (p<0,001) para el cálculo de intervalo libre de enfermedad en los CCR, mostrándose esta variable, alto grado vs bajo grado como factor pronóstico independiente. Similar resultado obtenemos cuando realizamos el modelo multivariable únicamente para los carcinomas de células claras obteniendo HR=5,95 (p=0,001) para el cálculo de probabilidad de supervivencia y HR=4,69 (p<0,001) para el intervalo libre de enfermedad.

Las controversias en cuanto al grado, existen fundamentalmente por la reproducibilidad interobservador, por lo que algunos autores tienden a agrupar en 2 grupos en lugar de los 4 que Fuhrman describió. Bretheau ¹⁴⁶ muestra correlación

del grado nuclear con el estadio, el tamaño tumoral, la afectación ganglionar y a distancia y la afectación de la grasa perirrenal. Tsui ¹⁴⁸ demuestra una fuerte correlación entre el grado tumoral y las supervivencias específicas de 89%, 65% y 46% para los grados 1, 2 y 3-4 respectivamente, siendo del 91%, 83% 60% y 0% para los grados 1, 2, 3 y 4 en pacientes con tumores en estadio T₁. Estos datos están en concordancia con los obtenidos en nuestro trabajo y confirman que **el grado es uno de los factores pronósticos más importantes** de los que disponemos en la actualidad.

El tipo histológico es otra de las posibles variables en cuanto a su valor real e independiente desde el punto de vista pronóstico, aunque existen datos contradictorios en la literatura. La distribución de nuestra serie por tipos, 73% de células claras, 14,2% papilares, 8,8% cromóforos y 2,7% quísticos multiloculares, está en concordancia con lo descrito en el resto de las series publicadas ⁴⁷.

En el análisis univariable obtenemos una probabilidad de supervivencia a 72 meses para los CCR de células claras, papilares, cromóforos y quísticos multiloculares del 79,0%, 95,4%, 100% y 100% respectivamente aunque sin significación estadística. La probabilidad de no recidiva tumoral es del 63,6%, 62,3%, 87,5% y 100% respectivamente, sin alcanzar significación. Tampoco son estadísticamente significativas las diferencias en los modelos multivariados para supervivencia ni para intervalo libre de enfermedad. En nuestra serie no se ha realizado diferenciación histopatológica entre los subtipos 1 y 2 ^{55, 298} de los carcinomas de tipo papilar, que sí podría tener diferente comportamiento, dado el escaso número de casos, que no permitiría un análisis estadístico de los mismos. El tumor que probablemente mejor pronóstico tiene dentro de los habitualmente estudiados, es el tipo cromóforo; varios estudios muestran estas diferencias con respecto al resto de tumores ^{138, 141}. Sin embargo, otros estudios como reporta Cheville y col. ¹³² de la Clínica Mayo, muestran supervivencias específicas del 69%, 87% y 87% para carcinomas de células claras, papilares y cromóforos respectivamente, manteniéndose las diferencias de supervivencia tras estratificar por estadios TNM y grado nuclear. En sentido contrario se expresan Patard y col. ⁶⁸ en un estudio

multicéntrico cuyos resultados en el análisis multivariable no resisten las diferencias en cuanto a supervivencia que se objetivan en el univariable.

El caso particular del carcinoma quístico multilocular, se trata como tumor diferenciado del resto por el buen pronóstico que habitualmente conlleva, aunque probablemente éste se deba al bajo grado nuclear que suele presentar en sus células y no tanto por su tipo histológico en sí ^{299, 300}.

En relación con las variables clínicas analizadas, el sexo no se perfila como factor que influya en la evolución de los tumores, ni en el análisis uni, ni en el multivariable en nuestra serie; tampoco la literatura describe diferencias en la evolución de estos tumores en función de esta variable. La variable edad marca diferencias significativas en el estudio univariable ($p=0,04$; $HR=2,21$) con peor supervivencia para los enfermos de mayor edad, y un mayor riesgo de recidiva tumoral ($p=0,009$; $HR=2,30$). Sin embargo no se confirma como factor de riesgo en el modelo multivariable para supervivencia ($p=0,38$; $HR=1,02$) ni para el cálculo de intervalo libre de enfermedad ($p=0,14$; $HR=1,02$) en los CCR. Tampoco existen diferencias en el modelo multivariable cuando se calculan para los carcinomas de células claras de forma aislada. Jung y col. ³⁰¹, en un estudio con 619 pacientes con CCR obtiene mejores supervivencias ($p<0,001$), tumores de menor estadio, menor grado y masas de menor tamaño, tomando como punto de corte 55 años, conservando significación estadística en el modelo multivariable ($p=0,003$) en tumores de bajo estadio (I y II). Masuda y col. ³⁰² realizaron análisis multivariable con 320 pacientes con CCR, confirmando entre otros factores la edad como variable independiente ($p=0,04$).

CAIX.

CAIX es un enzima cuya expresión esta mediada por el complejo transcripcional HIF, regulado por la inactivación del gen VHL observada en los CCR,

fundamentalmente en los de células claras, que actúan ante variaciones del pH intracelular durante periodos de hipoxia.

En nuestro trabajo CAIX no se comporta como variable independiente para predecir supervivencia en el estudio univariable en los CCR (HR=1,73; p=0,21). Tampoco lo hace para precedir probabilidad de recidiva (HR=1,94) aunque sí se observa una tendencia a un peor comportamiento en los tumores que expresan este marcador (p=0,05) para el punto de corte seleccionado.

En el estudio multivariable, no obtenemos para este marcador resultados que nos permitan considerarlo factor pronóstico independiente para supervivencia, ni para predecir tiempo libre de enfermedad en los CCR. Cuando se realiza el análisis multivariable únicamente para los carcinomas de células claras, obtenemos un efecto clínico relevante (HR=3,59), aunque sin significación estadística (p=0,24) para predecir supervivencia y sí una mayor relevancia, estadísticamente significativa (HR=4,90; p=0,02) para predecir tiempo libre de enfermedad, comportándose en este caso como variable pronóstica independiente.

La anhidrasa carbónica IX está sobre-expresada en carcinomas de células renales y no se expresan habitualmente en riñón adulto normal^{220, 221, 222}. Ha sido confirmada su expresión en carcinomas de células claras, en fusocelulares y en papilares, pero está ausente en el carcinoma cromóforo y en los oncocitomas²³⁰. CAIX se localiza en la cascada de la proteína VHL y se encuentra regulado por los niveles de hipoxia tisular a través de HIF-1 α . La pérdida de función de VHL también puede dar lugar a un acúmulo de HIF-1 α con la consiguiente sobre-expresión de CAIX. Oosterwijk²²⁹ fue el primero que publicó la expresión inmunohistoquímica de CAIX (G250) en 46 de 47 CCR primarios y 7 de 8 tumores metastásicos. Bui²³³, en un trabajo ya clásico sobre este marcador, confirma la alta especificidad de la tinción de CAIX, mostrando que el 94% de los tumores de su serie eran positivos, y fijó el 85% de expresión celular como punto de corte con el que mejor predecir supervivencia. En pacientes con CCR metastásico, la baja expresión fue factor

independiente de mal pronóstico (supervivencia). Para tumores no metastásicos con alto riesgo de progresión el comportamiento fue similar a los metastásicos.

En nuestro trabajo, se tomo como punto de corte el 50% de las células para considerar su positividad, por lo que no es posible una comparación con los resultados descritos. Por otra parte nuestra serie contiene un escasísimo número de tumores en estadio metastásico al contrario que la serie de Bui, y los tumores M1 iniciales, se retiraron para el cálculo del intervalo libre de enfermedad. Contrariamente a lo descrito en las series publicadas previamente encontramos un peor pronóstico en los pacientes con mayor expresión de CAIX, si bien, en el único caso que encontramos significación estadística en el estudio multivariable es para el cálculo de tiempo libre de enfermedad en carcinomas de células claras, serie en la que todos los casos eran tumores en estadio no metastásico. Yao³⁰³ propone que la presencia de mutación de VHL ha sido correlacionadas con mejor pronóstico en CCR esporádicos. Dado que CAIX está directamente regulado por VHL, que se encuentra mutado en el 75% de los CCR de células claras, niveles bajos de CAIX también podría correlacionarse con un mejor pronóstico como sucede en nuestra serie.

Obtenemos en nuestros casos en el análisis estratificado de las variables una relación estadísticamente significativa entre CAIX y los tumores en estadio pT₁ (p=0,04), que no se da en estadios más avanzados, que hasta ahora no hemos encontrado que haya sido descrito en la literatura. Igualmente existe correlación con significación estadística (p=0,03; HR=7,57) entre la expresión de CAIX y la de PTEN citoplasmático, en el análisis estratificado para CAIX.

Skapa³⁰⁴ explica en su estudio la ausencia de expresión de este marcador en otros ensayos previos y lo atribuya a la proporción de células granulares en cada tipo de tumor. El componente granular es común en los CCR de células claras y más frecuente en los tumores de alto grado, por lo que puede ser interpretado como un signo de mala diferenciación celular. Sin embargo, este tipo de células muestran de forma característica una negativa o baja expresión de CAIX. Por tanto la expresión de este marcador se asociaría al componente de células granulares existentes en el

tumor y por ende al número de mitocondrias en el citoplasma de estas células. En nuestro estudio, no obtenemos una relación con el grado nuclear pero sí con el estadio. Pensamos que podría ser una explicación a la mayor expresión de CAIX en tumores de bajo estadio.

Los futuros campos de aplicación de CAIX en la actualidad son muy amplios, no sólo en relación con su valor pronóstico. Se estudia su valor terapéutico (*lutetium/yttrium trial*), la formación de anticuerpos monoclonales frente a CAIX (mAb G250) para tratamiento por sí mismo o unidos a otras moléculas de forma adyuvante o secuencial; el uso de vacunas en pacientes cuyos tumores expresen de forma intensa CAIX es una línea de estudio mediante células dendríticas autólogas cargadas con adenovirus que codifican factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos frente a CAIX. Se investigan actualmente moléculas que bloqueen la actividad enzimática de CAIX. Se estudia también el valor diagnóstico mediante ¹²⁴I-cG250 con técnicas de medicina nuclear y su uso como radiotrazador en PET. El uso de este marcador para monitorización de respuesta a tratamientos es otro campo en vías de investigación, bien con PET, bien con imágenes por resonancia magnética³⁰⁵.

VEGF.

El VEGF es uno de los más potentes mitógenos conocidos, miembros de una familia que incluye 6 subtipos (VEGF-A-F) y el PlGF; ejerce su acción a través de receptores tirosin-kinasa de manera que inician una cascada de señales que estimulan el crecimiento, la supervivencia y la proliferación y maduración de las células endoteliales, fundamental en el proceso de angiogénesis tumoral. Se ha demostrado la expresión de VEGF en tejido tumoral de CCR y su ausencia en corteza normal del riñón³⁰⁶, por lo que la expresión positiva de VEGF se asocia a tejido de CCR. Folkman³⁰⁷ demostró la importancia de VEGF y sus receptores y sugirió la utilidad posterior para terapias antineoplásicas. Helmlinger³⁰⁸ proponía por primera vez la acción autocrina que el VEGF endotelial tiene en la formación de

nuevos vasos tumorales. Paradis³⁰⁹ informó de la correlación entre la expresión de VEGF y el tamaño tumoral en CCR clásico lo que apoya la hipótesis de que VEGF se asocia con el crecimiento tumoral y su progresión y mostró que su expresión citoplasmática era un factor pronóstico independiente. El análisis univariable de nuestra serie muestra una diferencia significativa pronóstica ($p=0,001$) en cuanto a supervivencia en favor de los carcinomas renales que no expresan VEGF frente a los que lo hacen ($HR=3,76$) para el punto de corte decidido. Un resultado similar se obtiene en la valoración de tiempo libre de enfermedad ($p=0,02$; $HR=2,25$) con pronóstico favorable para aquellos tumores que no expresan el marcador. En el modelo multivariable para los CCR la expresión de VEGF se comporta como factor pronóstico independiente para predecir supervivencia ($p=0,002$; $HR=4,83$). Sin embargo no obtenemos los mismos resultados con significación estadística cuando aplicamos el modelo a los CCR de células claras, ni para predecir supervivencia, ni para tiempo libre de enfermedad. Estos datos apoyan los existentes en la literatura respecto al valor pronóstico que puede tener la expresión inmunohistoquímica en este tipo de tumores. Yang³⁰⁶ obtiene en su serie de 198 pacientes diferencias significativas en cuanto a mayor afectación ganglionar ($P<0,001$) y mayor tasa de afectación venosa ($p<0,001$). Jacobsen³¹⁰ incluye 233 pacientes en todos los estadios, y obtiene una asociación con significación estadística entre la expresión de VEGF y el estadio tumoral, tanto en CCR de células claras como en papilares, así como en el tamaño tumoral en tumores no metastásicos. No existe en este estudio relación alguna con la edad ni con el sexo. En el análisis univariable la expresión del marcador se correlaciona con supervivencia, especialmente con CCR convencional, aunque su valor pronóstico se pierde en el análisis multivariable. Tras realizar estratificación de variables en nuestra serie, obtenemos algunos datos que se deben resaltar. Así, en los carcinomas de células claras, el HR ajustado para VEGF para mortalidad adquiere una relación que no tienen el resto de tipos histológicos ($HR=3,60$; $p=0,009$), lo que también sucede para tiempo libre de enfermedad ($HR=2,49$; $p=0,05$). Igualmente la expresión de VEGF puede tener mayor significación estadística en tumores de alto grado ($HR=3,47$; $p=0,01$) para cálculo de mortalidad. Otra interacción a tener en cuenta es la existente con el grado de

expresión de PTEN, de tal forma que VEGF adquiere mayor significación en carcinomas con menor expresión, en cuanto a intensidad de expresión de PTEN, tanto para cálculo de supervivencia (HR=5,03; $p=0,001$) como para ILE (HR=3,24; $p=0,02$), posiblemente por la interacción existente entre las distintas vías de control. Esta misma interacción entre vías parece observarse cuando estratificamos VEGF en función de la expresión PTEN citoplasmático puesto que en tumores que no expresan PTEN citoplasmático el HR ajustado de VEGF para mortalidad es claramente significativo ($p<0,001$; HR=5,11) e igualmente para cálculo de intervalo libre de enfermedad ($p=0,002$; HR=3,88). Esto implicaría que tumores con escasa expresión de PTEN citoplasmático (proteína con acción “protectora”) serían más propensos a expresar VEGF con el peor pronóstico que ello implicaría.

Una última interacción encontrada afecta a VEGF con CAIX, que como vimos, en nuestra serie es un factor de peor pronóstico. Los carcinomas renales que expresan CAIX tienen un HR para mortalidad e ILE peor que aquellos que no lo expresan para VEGF ($p=0,004$; HR=4,13 y $p=0,01$; HR=4,05 respectivamente). Es probable que las alteraciones iniciales en la cascada de regulación a nivel más alto (pVHL/HIF) sean los causantes de estos aumentos de factores de mal pronóstico y su potenciación a niveles más bajos de dichas cascadas, por interacciones entre las diferentes vías. Phuoc³¹¹ y colaboradores estudian la expresión de VEGF y CAIX en 122 CCR de células claras, encontrando una correlación inversa significativa entre la expresión de CAIX y VEGF ($p=0,003$). El análisis multivariable reveló que la coexpresión de ambos marcadores fue un factor pronóstico independiente para ILE ($p=0,002$), lo que les sirvió para estratificar los tumores en grupos de riesgo. Estos datos, acordes con los obtenidos por nosotros, ponen de manifiesto las interacciones entre vías de señalización y la necesidad de investigar estos biomarcadores y sus relaciones.

Aunque en teoría se podría pensar que podría haber una correlación entre la expresión de VEGF y la densidad microvascular no existen datos publicados que refuerzen esta teoría. En nuestra serie no obtenemos correlación significativa entre ambos. Raica³¹² en un estudio sobre 54 casos tampoco encuentra correlación entre

la expresión inmunohistoquímica de VEGF y la DMV realizada mediante tinción de CD31 y endogлина.

Son muy escasos los trabajos publicados en relación con la intensidad de expresión tisular de VEGF. Si bien es claramente una valoración personal del observador, con los problemas que ello puede conllevar en lo referente a interpretación y comparación de resultados, y el número de pacientes que obtenemos en cada grupo, nuestra serie muestra una clara diferencia de comportamientos entre grupos con significación estadística ($p=0,002$). En el análisis univariable para valoración de supervivencia obtenemos un $HR=3,02$ con $p=0,03$ para el grupo de expresión débil frente a la no expresión y un $HR=6,38$ con $p=0,003$ para el grupo de expresión más intenso.

En el caso del HR para el cálculo de probabilidad de no recidiva, en el análisis univariable, existe una tendencia, aunque sin lograr significación, según el grado de expresión del marcador. En ambos casos, se pierde el poder de predicción cuando realizamos el análisis multivariable, por lo que no parece que la estratificación según la intensidad de expresión aporte más información que el hecho de expresar o no el marcador por las células neoplásicas.

Independientemente del valor que VEGF tiene desde el punto de vista pronóstico su valor actualmente reside en constituirse en una diana terapéutica para los tratamientos de los que disponemos en la actualidad. En teoría, la vía de inducción de angiogénesis mediada por VEGF podría ser bloqueada de al menos seis formas diferentes: bloqueando la activación de HIF (105D5R); con anticuerpos frente a VEGF (bevacizumab); mediante “trampas” solubles creadas con parte de los dominios extracelulares de los receptores de VEGF que se unen a este e impiden que se unan al verdadero receptor; con anticuerpos que se fijan a VEGFR (IMC-18F1); con inhibidores de tirosin-kinasa (sorafenib, sunitinib) y finalmente mediante bloqueantes de la señal de transducción dentro de la célula endotelial³¹³.

PTEN.

PTEN, gen supresor tumoral, se encuentra con frecuencia mutado en un importante número de cánceres humanos, entre ellos el carcinoma de células renales³¹⁴ estando asociados en muchos casos a progresión tumoral y menor supervivencia. En el CCR se ha objetivado una pérdida de marcadores relacionados con PTEN en 20-43% de los casos y un 17% de mutaciones somáticas intragénicas³¹⁵. Su modo de acción está profundamente imbricado con AKT, con el que tiene una interrelación de equilibrio, a través del fosfatidil-inositol-trifosfato (PIP3). La vía PTEN/PI3K está completamente implicada en el desarrollo del cáncer, y la pérdida de actividad de PTEN por mutaciones, deleciones o metilaciones del promotor, son responsables del inicio y progresión tumoral en muchos tipos de tumores primarios o metastásicos³¹⁶. Esta pérdida de PTEN da lugar a un aumento de AKT mediante fosforilación (p-AKT) lo que conlleva mediante múltiples mecanismos inhibición de la apoptosis celular, sobre-expresión de ciclina D, interacciones con MDM2 con aumento consiguiente de la degradación de p53 o modificaciones en la regulación de proteínas relacionadas con la apoptosis celular (IAD y procaspasas). Los resultados obtenidos en nuestro trabajo tras analizar el porcentaje de células que expresan PTEN, no permiten establecer diferencias en cuanto a supervivencia ni a tiempo libre de enfermedad en el análisis univariable ($p=0,96$ y $p=0,46$ respectivamente). Tampoco obtenemos diferencias en la evolución al marcar como punto de corte el 75% de las células ($p=0,73$; HR= 1,14 para supervivencia y $p=0,52$; HR=1,23 para tiempo libre de enfermedad). Obtenemos resultados similares, sin diferencias entre grupos cuando evaluamos la intensidad de expresión en las células que lo hacen, tanto para supervivencia como para tiempo libre de recidiva. Únicamente en el caso del estudio de la expresión de PTEN citoplasmático se aprecia una tendencia a mayor supervivencia en los cánceres que lo expresan ($p=0,097$; HR=2,80); y una diferencia con significación estadística para la predicción del tiempo libre de enfermedad ($p=0,04$). Con ninguna de las valoraciones de PTEN obtenemos significación estadística que nos permita definir este marcador como factor pronóstico en cuanto a supervivencia en

el análisis multivariable para la totalidad de los CCR, pero la expresión de PTEN citoplasmático si lo consigue para predecir intervalo libre de enfermedad ($p=0,01$; $HR=3,50$). El modelo multivariable realizado únicamente en carcinomas de células claras no otorga valor pronóstico a ningún marcador relacionado con PTEN.

En nuestra serie, tras realizar análisis estratificado de las variables, encontramos una interacción protectora de PTEN citoplasmático en tumores de alto grado ($HR=0,22$; $p=0,04$) que no se encuentra en los de bajo grado. Pantuck³¹⁷ evalúa en 375 pacientes con CCR varios marcadores pronósticos, incluyendo PTEN, tanto como porcentaje de células que lo expresan como por su intensidad, de forma similar a nuestro trabajo. Encuentra una alta correlación entre la intensidad y la frecuencia de expresión (%) por lo que restringe el análisis de los datos a esta última variable. Obtiene, en el análisis univariable, una mayor expresión en carcinomas en estadios bajos (T_1-T_2), en los subtipos no de células claras y en tumores localizados. Propone como punto de corte ideal el 75% de las células con expresión y con este valor realiza el análisis multivariable, obteniendo significación estadística ($p=0,024$). Cuando estratifica para carcinomas localizados (N_0-M_0), la expresión de PTEN pierde su significación estadística y deja de tener valor pronóstico independiente, que sí mantiene en tumores metastásicos ($p=0,04$). Con estos datos concluye que la inhibición de la vía m-TOR podría ser más beneficiosa en pacientes con CCR de células claras metastásicas y baja expresión de PTEN.

Dadas las características de nuestra serie, con gran mayoría de tumores no metastásicos, los resultados son compatibles con los obtenidos por Pantuck en la serie de la UCLA, si bien por el número de pacientes no podemos obtener datos concluyentes en tumores distintos a los de células claras ni en pacientes metastásicos. Lee³¹⁵ en su serie publicada de 67 pacientes obtiene al igual que nosotros una correlación entre bajos niveles de expresión de PTEN y alto grado nuclear, así como con el estadio tumoral y no encuentra relación con edad, sexo, tamaño tumoral y tipo histológico, en análisis univariable; la baja expresión de PTEN se asocia con una menor supervivencia, aunque no logra tener significación como variable pronóstica independiente en el modelo multivariable. Para Kondo³¹⁸

las mutaciones de PTEN ocurren como evento tardío en la transformación tumoral y contribuye esencialmente a invasión y a la metastatización del mismo. Hager³¹⁹ estudia 493 muestras mediante técnica de TMA analizando las distintas formas de expresión de PTEN. Concluye que la expresión del mismo es predominantemente citoplasmática y que el patrón de expresión no influye como factor pronóstico en la supervivencia, en discrepancia con nuestros datos en cuanto al patrón de expresión. He³²⁰ estudia 35 CCR de células claras y 9 papilares y demuestran que en el 31% de sus tumores de células claras coexisten niveles elevados de P-AKT en presencia de altos niveles de expresión de PTEN por lo que existen otros mecanismos de control de AKT, independientes de PTEN y/o puede existir una expresión de PTEN que por mutaciones genéticas no sea activo.

P-AKT.

Esta serina-tirosina kinasa inicia una serie de cascadas intracelulares tras su activación, todos ellos mediados por fosfatidil-inositoles. Su receptor transmembrana puede ser estimulado de múltiples formas: factor de crecimiento (PDGF, EGF, NGF, IGF,...) integrinas, angiotensina II, alteraciones oncogénicas, etc, de forma que activa la fosfatidil-inositol-3-kinasa, que convierte fosfatidil-inositol 4-5 difosfato en 3,4,5 trifosfato, que actúa como segundo mensajero activando AKT mediante la unión de alta afinidad de éste a su extremo N terminal. Esta activación afecta de forma conformacional a la molécula de AKT fosforilándola a nivel de treonina 308 y serina 473. Los efectos de esta activación se traducen en otras vías de señalización afectando al metabolismo de la glucosa (vía GSK), a la regulación del ciclo celular (vía MDM2/p21/p27/ciclina D), a inhibición de la apoptosis celular (vía BAD/FKHR/procaspasa 9) y a invasión de las células (vía NF-KB) entre otras²⁵¹. Es en esta vía donde PTEN, como vimos previamente, realiza la labor supervisora impidiendo que aumenten los niveles de PIP-3 (fosfatidil inositol trifosfato) mediante defosforilización de éste en posición 3 por lo que PTEN y p-AKT van a

estar estrechamente vinculados, de forma que niveles bajos de PTEN o proteínas no funcionantes va a dar lugar a altos niveles de p-AKT^{208, 321}

En nuestra serie, en el análisis univariable, obtenemos diferencias en cuanto a supervivencia según el porcentaje de células que expresan p-AKT para los grupos establecidos, todos con diferencias significativas a excepción del grupo (26-50%) comparándolos con aquellos tumores que no expresan p-AKT. Igualmente de forma global aquellos tumores que expresan el marcador (en cualquier porcentaje) tienen una peor supervivencia a 72 meses que los que no lo expresan ($p=0,02$; $HR=2,37$). Igualmente existen diferencias significativas ($p=0,004$) en el modelo univariable para predecir tiempo libre de enfermedad, cuando se estratifica en grupos por porcentaje de células que tiñen el marcador. Sin embargo, no alcanza significación estadística ($p=0,09$; $HR=1,74$) cuando estratificamos para expresión frente a no expresión. Utilizando como punto de corte el 50% de células que expresan p-AKT, sí obtenemos significación ($p=0,04$; $HR=2,50$) para los tumores que sobrepasan este límite en el cálculo de tiempo libre de enfermedad post-tratamiento quirúrgico reducido con respecto a los que no lo expresan.

Realizado el modelo multivariable se mantiene la expresión de $>50\%$ como factor pronóstico independiente para supervivencia en los CCR ($p=0,04$; $HR=3,81$). Sin embargo no logra significación estadística para predecir tiempo libre de enfermedad ($p=0,11$; $HR=2,43$). Cuando realizamos el modelo multivariable únicamente en los carcinomas de células claras se mantiene la significación tanto para supervivencia ($p=0,02$; $HR=5,05$) como para ILE ($p=0,03$; $HR=4,12$) por lo que la expresión de este marcador en $>50\%$ de las células se puede considerar como factor pronóstico independiente en este tipo tumoral.

En la valoración de la intensidad de expresión encontramos significación en el análisis univariable para aquellos que lo expresan de forma intensa ($p=0,02$; $HR=3,48$) para cálculo de supervivencia y para tiempo libre de enfermedad ($p=0,03$; $HR=2,99$). No se mantiene la significación en el modelo multivariable para supervivencia en tiempo libre de enfermedad en CCR ni en carcinoma de células claras.

Pantuck³¹⁷ en su estudio de UCLA sobre 375 pacientes encuentra expresión de p-AKT citoplasmático en el 93% de sus tumores, siendo mayor su expresión en tumores de células claras que en el resto. Analiza la expresión de p-AKT nuclear y percibe un pronóstico favorable cuando lo expresa y desfavorable cuando la expresión es citoplasmática, siendo un factor independiente en el modelo multivariable. Se toma como punto de corte ideal el 40% de las células con expresión del mismo, bastante próximo al tomado en nuestro estudio.

Merseburger³²² en un estudio con 176 muestras tumorales estudia diversas moléculas relacionadas con la vía m-TOR y halla una menor supervivencia en pacientes con baja expresión de PTEN y alta de p-AKT. Hager³²³ analiza 386 muestras mediante TMA, obteniendo los siguientes resultados: una mayor expresión de p-AKT en núcleo que en citoplasma; no objetiva relación del marcador con grado, estadio o invasividad; mayor expresión en carcinomas de células claras y papilares que en el resto de tumores y comportamiento como factor pronóstico independiente para supervivencia. Nuestros resultados parecen confirmar los encontrados en los anteriores estudios mencionados en este sentido. En el análisis estratificado de nuestra muestra, encontramos diferentes interacciones entre variables en consonancia con lo expresado en la literatura. Así encontramos una relación significativa ($p=0,002$) entre la expresión de p-AKT y la de PTEN, con un HR=6.54 de mortalidad para aquellos tumores que marcan >50% de las células p-AKT y <75% de las células PTEN, frente a HR=1.58 ($p=0,67$) para los que marcan p-AKT y >75% PTEN. Relación similar existe en el cálculo de HR para ILE (HR=1,00; $p=1,00$ para los que expresan >50% p-AKT y >75% PTEN). Por lo tanto, van a tener peor pronóstico aquellos tumores con alta expresión de p-AKT y bajo de PTEN concomitantemente.

DMV.

La densidad microvascular es considerada como una forma de cuantificar la vascularización tumoral. Su valor pronóstico es controvertido en el CCR, de tal forma que existen trabajos que avalan su valor, con una correlación positiva entre

DMV y supervivencia^{52, 289, 324, 325}, aunque otros muestran su valor contrario^{326, 327}. Si bien es cierto que son distintos los marcadores utilizados en cada uno de los estudios para realizar las tinciones (CD31, CD34, factor VIII, endogлина, etc). No encontramos en nuestra serie un valor pronóstico en cuanto a supervivencia ni como predictor de ILE en análisis univariable ni multivariable. Aunque el valor de la muestra es limitado por el escaso número de pacientes en los que se ha realizado el análisis del marcador CD31, los valores de p obtenidos (p=0,99; HR=0,99 para supervivencia y p=0,98; HR=1,03 para cálculo de ILE) nos hace pensar que no existirían diferencias apreciables con mayor número de tumores estudiados, por lo que no aumentamos el número de éstos para continuar el estudio. Ni McLennam³²⁸, que analiza la expresión de factor VIII como forma de medir DMV ni Mikami³²⁹ encuentran ningún tipo de relación entre la densidad microvascular y la agresividad o su influencia en la supervivencia en los CCR. En nuestro estudio hemos utilizado CD31 (PECAM-1) como marcador de neovascularización. Se trata de una glicoproteína transmembrana perteneciente a las inmunoglobulinas de moléculas de adhesión presente en la superficie de plaquetas, leucocitos y células endoteliales.

Sadlung³³⁰ analiza 208 muestras de CCR mediante TMA, evaluando la DMV mediante inmunohistoquímica con marcador CD31. Encuentra significativamente mayor expresión en CCR de células claras en comparación con los papilares (p<0,001). Descubre en los carcinomas convencionales una relación inversa con estadio TNM (p=0,02) y con el grado nuclear (p=0,01) en análisis univariable, que no se mantiene en el multivariable. Zhang³³¹ analiza 70 muestras tumorales de CCR analizando CD31 y encuentra correlación entre DMV y estadio tumoral. Djordjevic y col.³³² analizan 93 muestras de carcinomas de células claras mediante tinción de CD31 y comparan expresión de VEGF, Ki67 y DMV. Contrariamente a nuestro estudio encuentran un menor valor de DMV, un mayor grado nuclear y mayor índice de proliferación con Ki67 en carcinomas que expresan >75% VEGF. Dados los hallazgos descritos a cerca del valor pronóstico de la DMV existentes en la literatura, no es posible definir el valor pronóstico en estos momentos,

probablemente por varios motivos. Por un lado, hablar de DMV es poco útil puesto que la forma de cuantificarla, se basa en la expresión de múltiples marcadores que pretenden expresar lo mismo, pero que probablemente no lo hagan. Probablemente no sea posible comparar los hallazgos conseguidos con la expresión de CD31 con los de CD34 o con los de factor VIII o con endogлина (CD105). En este sentido Yao²⁸⁹ diferencia mediante la expresión de CD31 y CD34, 2 tipos diferentes de vasos, los CD31+/CD34+ que él define como vasos diferenciados o maduros, y los CD31+/CD34- que corresponderían a vasos indiferenciados, cada uno con un valor pronóstico distinto. Por otro lado, conocemos que los CCR son tumores con gran neovascularización, mayor que en otros tipos de tumores, y sin embargo la DMV tumoral es menor que en tejido renal normal³³³, lo que indicaría que DMV no es equivalente a actividad angiogénica. Rak y col.³³⁴ sugieren que la DMV refleja la demanda vascular y/o metabólica del tumor y no el hecho de la neovascularización/actividad angiogénica en sí.

Ki 67.

El Ki67 es un antígeno nuclear expresado en las fases G₁, G₂, G₃ y M del ciclo celular, ausente en células en reposo, lo que lo hace útil como marcador de proliferación celular^{194, 195}.

Realizado análisis univariable en nuestros tumores encontramos diferencias en cuanto a supervivencia e ILE en los CCR según expresión o no de este marcador, con un peor pronóstico en los pacientes que expresan Ki67 (HR=4,91; p=0,001 para supervivencia y HR=2,70; p=0,04 para tiempo libre de enfermedad). Sin embargo estas diferencias no se mantienen en el modelo multivariable ni para CCR globalmente ni para CCR de células claras.

Al realizar análisis estratificado de nuestras variables, podemos encontrar el motivo de que en el modelo multivariable no se mantenga la expresión de Ki67 como factor pronóstico independiente. El riesgo relativo de mortalidad está claramente aumentado en carcinomas en estadio pT₁ (HR=5,22; p=0,004) por lo que la expresión de este marcador es un factor de riesgo para mortalidad en tumores de

bajo estadio (pT₁). En nuestro estudio encontramos también una relación evidente con el tipo tumoral de tal forma que la expresión de este marcador es un factor de riesgo para mortalidad y recidiva tumoral en los carcinomas de células claras y no en el resto de tipos histológicos (HR=6,24; p=0,001 para mortalidad y HR=3,06; p=0,04 para tiempo libre de enfermedad).

La expresión de Ki67 se ha asociado con estados clínicos avanzados y peor grado histológico³³⁵. Autores como Moch¹⁹⁹, Kallio³³⁶ y Yildiz³³⁷ encuentran menor supervivencia en los tumores con expresión de Ki67 en análisis univariable, que no se mantienen en el multivariable. Visapä²²⁵ analiza 257 muestras de CCR obteniendo la expresión de Ki67 significación estadística (p=0,03) como factor pronóstico de supervivencia independientemente del resto de variables analizadas. Bui³³⁸ estudia mediante técnica de TMA 224 pacientes tratados con nefrectomía por CCR. Analiza Ki67 solo y asociado a CAIX. Su trabajo muestra en modelo multivariable el comportamiento de estos marcadores como factores pronósticos (HR=1,78; p=0,01 para Ki67) tanto solos como combinados entre sí (p<0,001 para combinación de ambos) permitiendo estratificar subgrupos de pacientes de bajo, intermedio y alto riesgo. Delahunt³³⁹ realiza inmunotinción para Ki67 en 173 tumores y propone como punto de corte el 6% de expresión de las células, mostrando diferencias significativas en cuanto a supervivencia. De Riese³⁴⁰ en un estudio prospectivo con 58 pacientes encuentra alta correlación con el grado nuclear y con la tasa de recurrencia sin encontrar correlación con el estadio pT, comprobándose la expresión de este marcador como factor pronóstico independiente. Rioux¹⁹⁶ y Kim³⁴¹ también encuentran la expresión de Ki67 como predictor independiente de supervivencia en sus estudios, aunque el estudio de Kim con 150 pacientes está realizado únicamente con tumores metastásicos.

Chevillat³⁴² y Gelb³⁴³ limitan su estudio a pacientes en estadio pT₁ sin hallar evidencia de relación entre la expresión del marcador y la supervivencia de los pacientes. Nuestro estudio ratifica los resultados obtenidos por otros autores como Moch, Kallio o Yildiz en cuanto a la implicación de este marcador como factor pronóstico únicamente en el análisis univariable, sin que el multivariable ratifique

su uso como marcador predictivo. El hecho de que la probabilidad de mortalidad para los tumores pT₁ (HR=5,22; p=0,004) se mayor que para los tumores pT₂ (HR=1,76; p=0,55) es difícilmente explicable y difiere de lo publicado en la literatura. Así mismo también existe una mayor probabilidad de muerte para los CCR de células claras que expresan Ki67 que en otros tipos histológicos, también difícilmente justificable si nos atenemos a lo publicado por otros autores, en los que no se encuentran estas diferencias.

La probabilidad de mortalidad, en nuestro estudio, también en mayor (HR=5,83; p=0,001) en aquellos tumores con mayor expresión de PTEN (>75%), e igual sucede con la probabilidad de recidiva en estos tumores (HR=3,16; p=0,03). La relación Ki67-PTEN es poco clara y no existen datos en la literatura que permitan predecir el comportamiento de tumores cuando se combinan ambos marcadores. Parece lógico pensar que aquellos tumores con menor expresión de PTEN deberían tener una mayor agresividad y una mayor actividad proliferativa, por la acción protectora que PTEN conlleva, si bien en nuestro estudio la mortalidad y el riesgo de recidiva de enfermedad es mayor en aquellos tumores que expresan Ki67 y mayor expresión de PTEN muestran. De forma análoga y coherente con los resultados de nuestro estudio la expresión de Ki67 es un factor de riesgo mayor para mortalidad en tumores con menor expresión de p-AKT (con acción antagónica a PTEN), con HR=5,10 y p=0,01 para los que no expresan p-AKT, HR=5,15 y p=0,08 para tumores con expresión ≤50% y HR=2,04 y p=0,54 para tumores con expresión >50% de p-AKT. Por tanto existe un mayor riesgo de mortalidad en aquellos tumores Ki67 (+) que expresan PTEN así como en los que no expresan p-AKT.

BCL-2.

La proteína bcl-2 actúa habitualmente como inhibidor de la apoptosis celular, aunque su papel en el CCR está por descubrir. Pocos son los informes existentes en la literatura relacionados con este marcador que dispongan de un elevado número de casos.

En nuestra serie no percibimos en el estudio univariable diferencias entre los grupos que expresan o no este marcador tumoral (HR=1,15; p=0,74) para predecir supervivencia no intervalo libre de enfermedad (HR=0,96; p=0,92). Tampoco hallamos en el análisis estratificado de las variables interacciones que condicionen la evolución de los tumores entre las distintas variables. Vemos, por tanto, que la expresión de bcl-2 no condiciona de modo alguno ni predice la evolución de los CCR en nuestro grupo de pacientes. Vasavada¹⁸⁹, en la Clínica Cleveland, estudia 28 casos de carcinomas de células claras, 7 papilares y 4 oncocitomas; todos ellos en estadio pT₂. Encuentra una correlación positiva (p=0,02) con tumores de alto grado, pero no con supervivencia, recurrencia o metástasis y concluye la falta de eficacia para predecir evolución. Itoi¹⁹⁰ analiza una cohorte de 101 pacientes con enfermedad localizada encontrando que la positividad se correlacionaba con mejor supervivencia (p=0,01) y menor grado (p=0,02) y estadio tumoral (p=0,03). Lee³⁴⁴ realiza estudio inmunohistoquímico en 149 tumores, (112 pT₃ primarios y 37 metastásicos) y observa una mayor expresión de bcl-2 en los metastásicos en comparación con los primarios (p=0,003), pero la expresión del marcador no predecía supervivencia ni tiempo libre de enfermedad. Zhang¹⁹⁵ en su estudio de 70 CCR, tampoco informa de relación del marcador con hallazgos clinicopatológicos ni relación alguna con supervivencia. Por tanto, no parece que la expresión de bcl-2 tenga, por lo publicado hasta ahora, demasiada relevancia para predecir la evolución futura de los pacientes con CCR.

CONCLUSIONES

1.- El estadio tumoral (pT) se comporta como factor pronóstico para predecir supervivencia y tiempo libre de enfermedad tanto en CCR de células claras como en el total de los adenocarcinomas renales, tanto en el modelo univariable como en el multivariable.

2.- El estadio tumoral (pN) se comporta como factor pronóstico para predecir supervivencia y tiempo libre de enfermedad en el análisis univariante para el estadio pN₂, pero no en el multivariable en los CCR, ni en los CCR de células claras.

3.- El grado nuclear se comporta como factor pronóstico para predecir supervivencia y tiempo libre de enfermedad tanto en los CCR globalmente como en los de células claras en el análisis univariable y multivariable.

4.- El tipo histológico no se comporta en nuestra serie como factor pronóstico independiente.

5.- La expresión de CAIX es un factor pronóstico independiente para predecir tiempo libre de enfermedad únicamente en los CCR de células claras. Encontramos un efecto clínico relevante para predecir supervivencia en estos tumores aunque sin alcanzar significación estadística.

6.- La expresión de VEGF es un factor pronóstico independiente para predecir supervivencia y tiempo libre de enfermedad en los CCR.

7.- La expresión de PTEN citoplasmático es un factor pronóstico en el análisis multivariable para predecir tiempo libre de enfermedad en el CCR.

8.- La expresión de p-AKT en más del 50% de las células es un factor pronóstico independiente en el modelo multivariable para predecir supervivencia en CCR y para predecir supervivencia e intervalo libre de enfermedad en los carcinomas de células claras.

9.- La DMV, la expresión de Ki67 y de bcl-2 no son útiles para predecir supervivencia ni tiempo libre de enfermedad en los CCR.

BIBLIOGRAFÍA

-
- ¹ Schöffski P, Dumez H, Clement P et al. Emerging role of tyrosine kinase inhibitors in the treatment of advanced renal cell cancer: a review. *Annals of Oncology*. 2006; 17:1185-1196
 - ² Ferlay J, Bray F, Pisani P, et al. GLOBOCAN 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. IARC CancerBase N°5, version 2.0 Lyon: IARC Press 2004.
 - ³ Chow W, Devesa S, Warren JL et al. Rising Incidence of Renal Cell Cancer in the United States. *JAMA*. 1999; 281:1628-1631.
 - ⁴ Pantuck AJ, Zisman A, Belldegrun AS. The changing natural history of renal cell carcinoma. *J Urol*. 2001; 166:1611-23.
 - ⁵ Hock LM, Lynch J, Balaji KC. Increasing incidence of all stages of kidney cancer over the last two decades in the United States: an analysis of surveillance, epidemiology, and end results program (SEER) data. *Journal of Urology*. 2002; 167: 57-60.
 - ⁶ Jemal A, Siegel R, Ward E et al. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin*. 2006; 56:106–130.
 - ⁷ Lam JS, Leppert JT, Figlin RA et al. Surveillance following radical or partial nephrectomy for renal cell carcinoma. *Curr Urol Rep*. 2005; 6:7-8
 - ⁸ Campbell SC, Flanigan RC, Clark JI. Nephrectomy in metastatic renal cell carcinoma. *Curr Treat Options Oncol*. 2003; 4: 363-372.
 - ⁹ Maher ER, Kaelin WG. Von Hippel-Lindau disease. *Medicine (Baltimore)*. 1997;76(6):381–391.
 - ¹⁰ Lonser RR, Glenn GM, Walther M et al. Von Hippel-Lindau disease. *Lancet* 2003; 361:2059-67
 - ¹¹ Richard S, Lidereau R, Giraud S. The growing family of hereditary renal cell carcinoma. *Nephrol Dial Transplant* . 2004; 19:2954-2958
 - ¹² Takahashi M, Kahnoski R, Gross D et al. Familial adult renal neoplasia. *J. Med. Genet*. 2002; 39: 1–5.
 - ¹³ Schmidt L, Junker K, Weirich G et al. Two North American families with hereditary papillary renal carcinoma and identical novel mutations in the MET proto-oncogene. *Cancer research*. 1998 ; 58: 1719-1722.

- ¹⁴ Schmidt L et al. Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Nat Genet.* 1997; 16: 68-73.
- ¹⁵ Olivero M, Valente G, Bardelli A, et al. Novel mutation in the ATP-binding site of the MET oncogene tyrosine kinase in a HPRCC family. *Int j cancer.* 1999; 82:640-3.
- ¹⁶ Schmidt LS, Nickerson ML, Angeloni D, et al. Early onset hereditary papillary renal carcinoma: germline missense mutations in the tyrosine kinase domain of the met proto-oncogene. *J Urol.* 2004; 172:1256-6.
- ¹⁷ Teh BT, Farnebo F, Kristoffersson U, et al. Autosomal dominant primary hyperparathyroidism and jaw tumor syndrome associated with renal hamartomas and cystic kidney disease: linkage to 1q21-q32 and loss of the wild type allele in renal hamartomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 81: 4204-4211.
- ¹⁸ Sampson R, Patel A, Mee AD. Multifocal renal cell carcinoma in sibs from a chromosome 9 linked (TSC1) tuberous sclerosis family. *J Med Genet.* 1995; 32: 848-850.
- ¹⁹ Pavlovich CP, Walther MM, Eyer RA et al. Renal tumors in the Birt-Hogg-Dube syndrome. *Am J Surg Pathol.* 2002; 26:1542-1551.
- ²⁰ Zbar B, Alvord WG, Glenn G et al. Risk of renal and colonic neoplasms and spontaneous pneumothorax in the Birt Hogg Dube syndrome. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11:393-40.
- ²¹ Pavlovich CP, Grubb RL, Hurley K et al: Evaluation and Management of Renal Tumors in the Birt-Hogg-Dubé Syndrome. *J Urol.* 2005;173:1482-1486.
- ²² Nickerson ML, Warren MB, Toro JR et al. Mutations in a novel gene lead to kidney tumors, lung wall defects and benign tumors of the hair follicle in patients with the Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Cancer Cell.* 2002; 2:157-164.
- ²³ Roth JS, Rabinowitz AD, Benson M et al. Bilateral renal cell carcinoma in the Birt-Hogg-Dube syndrome. *J Am Acad Dermatol.* 1993; 29:1055-6.
- ²⁴ Kiuru, Launonen V, Hietala M, Aittomäki K et al. Familial Cutaneous Leiomyomatosis Is a Two-Hit Condition Associated with Renal Cell Cancer of Characteristic Histopathology. *Am J Pathol.* 2001;159:825-829.
- ²⁵ Grubb RL 3rd, Franks ME, Toro J et al. Hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer: a syndrome associated with an aggressive form of inherited renal cancer. *J Urol.* 2007;177:2074-9.

-
- ²⁶ Launonen V, Vierimaa O, Kiuru M et al. Inherited susceptibility to uterine leiomyomas and renal cell cancer *Proc Natl Sci USA* . 2001; 98: 3387-3392.
- ²⁷ Malchoff CD, Sarfarazi M, Tendler B et al. Papillary thyroid carcinoma associated with papillary renal neoplasia: genetic linkage analysis of a distinct heritable tumor syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85:1758-64.
- ²⁸ La Vecchia C, Negri E, D'Avanzo B et al. Smoking and Renal Cell Carcinoma. *Cancer Res*. 1990; 50:5231-5233.
- ²⁹ Wynder EL, Mabuchi K, Whitmore WF Jr. Epidemiology of adenocarcinoma of the kidney. *J Natl Cancer Inst*. 1974;53:1619–1634.
- ³⁰ McCredie M, Ford JM, Stewart JH. Risk factors for cancer of the renal parenchyma. *Int J Cancer*. 1988; 42:13-16.
- ³¹ Pischon T, Lahmann PH, Boeing H et al. Body size and risk of renal cell carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Int J Cancer*. 2006;118:728-38.
- ³² Dhote R, Thiounn N, Debré B et al. Risk factors for adult renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am*. 2004; 31; 237 -247.
- ³³ Gago-Dominguez M, Yuan JM, Castelao JE et al. Regular use of analgesics is a risk factor for renal cell carcinoma. *Br J Cancer*. 1999;81:542-8.
- ³⁴ Parker AS, Cerhan JR, Lynch CF et al. History of urinary tract infection and risk of renal cell carcinoma. *Am J Epidemiol* 2004;159:42-48.
- ³⁵ Lindblad P, et al. International renal-cell cancer study. V. Reproductive factors, gynecologic operations and exogenous hormones. *Int J Cancer* 1995;61:192-8
- ³⁶ Savitz DA, Moure R. Cancer risk among oil refinery workers. A review of epidemiologic studies. *J Occup Med*. 1984;26:662–670.
- ³⁷ Lee JE, et al. Intakes of Fruits, Vegetables, Vitamins A, C, and E, and Carotenoids and Risk of Renal Cell Cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006; 15: 2445-2452.
- ³⁸ Weikert S, et al. Fruits and vegetables and renal cell carcinoma: findings from the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *Int J Cancer*. 2006;118: 3133-9.

- ³⁹ Stewart JH, et al. Cancers of the kidney and urinary tract in patients on dialysis for end-stage renal disease: analysis of data from the United States, Europe, and Australia and New Zealand. *J Am Soc Nephrol.* 2003; 14:197-207.
- ⁴⁰ Maisonneuve P, et al. Cancer in patients on dialysis for end-stage renal disease: an international collaborative study. *Lancet*, 1999; 354: 93-9.
- ⁴¹ Oberling C, Rivièrè M, Haguénan F. Ultrastructure of the clear cells in renal carcinomas and its importance for the demonstration of their renal origin. *Nature.* 1960;186:402-403.
- ⁴² Thoenes W, Störkel S, Rumpelt HJ. Human chromophobe cell renal carcinoma. *Virchows Arch (Cell Pathol)* 1985;155:277-287.
- ⁴³ Kovacs G. Molecular differential pathology of renal cell tumours . *Histopathology* 1993;22:1-8.
- ⁴⁴ Kovacs G, Akhtar M, Beckwith BJ. The Heidelberg classification of renal cell tumours . *J. Pathol.* 1997;183:131-133.
- ⁴⁵ Eble JN, Sauter G, Epstein JI, et al. World Health Organization Classification of tumours. Pathology and Genetics Tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon 2004; 10, IARC Press.
- ⁴⁶ Algaba F, Arce Y, Trias I, et al. Aplicación clínica de las actuales clasificaciones del cáncer renal. *Actas Urol Esp.* 2006; 30: 372-385.
- ⁴⁷ Störkel S, Eble JN, Adlakha K, 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.* 1997; 80:987-9.
- ⁴⁸ Chu PG, Weiss LM. Cytokeratin 14 immunoreactivity distinguishes oncocytic tumour from its renal mimics: an immunohistochemical study of 63 cases. *Histopathology* 2001; 39:455-462.
- ⁴⁹ Young AN, de Oliveira Sales PG, Lim SD, et al. Beta-Defensin-1, Parvalbumin and vimentin. A panel of diagnostic immunohistochemical markers for renal tumors derived from gene expression profiling studies using cDNA microarrays. *Am J Surg Pathol.* 2003; 27:199-205.
- ⁵⁰ Velickovic M, Delahunt B, Störkel S, et al. VHL and FHIT locus loss of heterozygosity is common in all renal cancer morphotypes but differs in pattern and prognostic significance. *Cancer Res.* 2001;61:4815-4819.

-
- ⁵¹ Velickovic M, Delahunt B, Grebe SKG. Loss of heterozygosity at 3p14.2 in clear cell carcinoma is an early event and is localized to the FHIT gene locus. *Cancer Res.* 1999; 59:1323-1326.
- ⁵² Schraml P, Struckmann K, Hatz F, et al. VHL mutations and their correlation with tumour cell proliferation, microvessel density, and patient prognosis in clear cell renal cell carcinoma. *J Pathol.* 2002;196:186-193.
- ⁵³ Kim W Y, Kaelin WG. Role of VHL Gene Mutation in Human Cancer. *J. Clin. Oncol.* 2004; 22: 4991-5004.
- ⁵⁴ Cohen H, McGovern FJ. Renal-Cell Carcinoma. *N Eng J Med.* 2005; 353:2477-2490.
- ⁵⁵ Delahunt B, Eble JN.: Papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 tumors. *Mod Pathol.* 1997;10:537-544.
- ⁵⁶ Amin MB, Corless CL, Renshaw AA, et al. Papillary (Chromophil) renal cell carcinoma: Histomorphologic characteristics and evaluation of conventional pathologic prognostic parameters in 62 cases. *Am J Surg Pathol.* 1997;21:621-635.
- ⁵⁷ Gunawan B, von Heydebreck A, Fritsch T, et al. Cytogenetic and morphologic typing of 58 papillary renal cell carcinomas: evidence for a cytogenetic evolution of type 2 from type 1 tumors. *Cancer Res.* 2003; 63:6200-5.
- ⁵⁸ Beck SD, Patel MI, Snyder ME, et al. Effect of papillary and chromophobe cell type on disease-free survival after nephrectomy for renal cell carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2004;11:71-7.
- ⁵⁹ Kovacs G, Fucsi L, Emanuel A, et al. Cytogenetics of papillary renal cell tumors. *Genes Chromosomes Cancer.* 1991;3:249-255.
- ⁶⁰ Jeffers M, Schmidt L, Nakaigawa N, et al. Activating mutations for the met tyrosine kinase receptor in human cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A .* 1997; 94:11445–50.
- ⁶¹ Renshaw AA,; Subclassification of renal neoplasms: an update for practicing pathologists. *Histopathology.* 2002;41:283-300.
- ⁶² Thoenes W, Störkel S, Rumpelt HJ, et al. Chromophobe cell renal carcinoma and its variants--a report on 32 cases. *J Pathol.* 1988;155:277-87.
- ⁶³ Cheville JC, Lohse CM, Zincke H, et al. Sarcomatoid renal cell carcinoma: an examination of underlying histologic subtype and an analysis of associations with patient outcome. *Am J Surg Pathol.* 2004;28:435-41.

- ⁶⁴ Störkel S, Steart PV, Drenckhahn D, et al. The human chromophobe cell renal carcinoma: its probable relation to intercalated cells of the collecting duct. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 1989;56:237–245.
- ⁶⁵ Ortmann M, Vierbuchen M, Fischer R. Sialylated glycoconjugates in chromophobe cell renal carcinoma compared with other renal cell tumors. Indication of its development from the collecting duct epithelium. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol*. 1991;61:123-32.
- ⁶⁶ Akhtar M, Kardar H, Linjawi T, et al. Chromophobe cell carcinoma of the kidney. A clinicopathologic study of 21 cases. *Am J Surg Pathol*. 1995;19:1245-56.
- ⁶⁷ Speicher MR, Schoell B, du Manoir SD, et al: Specific loss of chromosomes 1, 2, 6, 10, 13, 17 and 21 in chromophobe renal cell carcinomas revealed by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol* 1994;145:356-364
- ⁶⁸ Patard JJ, Leray E, Rioux-Leclercq N, et al. Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinomas: a multicenter experience. *J Clin Oncol*. 2005;23:2763-2771.
- ⁶⁹ Lau WK, Cheville JC, Blute ML, et al. Prognostic features of pathologic stage T1 renal cell carcinoma after radical nephrectomy. *Urology* .2002;59:532–7
- ⁷⁰ Peyromaure M, Misrai V, Thiounn N, et al. Chromophobe renal cell carcinoma: analysis of 61 cases. *Cancer*. 2004;100:1406-10.
- ⁷¹ Srigley JR, Moch H. Carcinoma of the collecting ducts of Bellini. In Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA. *World Health Organization Classification of tumours. Pathology and Genetics Tumours of the urinary system and male genital organs*. Lyon 2004;33, IARC Press,.
- ⁷² Srigley JR, Eble JN. Collecting duct carcinoma of kidney. *Sem Diagn Pathol*. 1998;15:54-57.
- ⁷³ De Peralta-Venturina M, Moch H, Amin M, et al. Sarcomatoid differentiation in renal cell carcinoma. A study of 101 cases. *Am J Surg Pathol* .2001;25:275-284.
- ⁷⁴ Füzesi L, Cober M, Mittermayer CH. Collecting duct carcinoma: cytogenetic characterization. *Histopathology*. 1992;21:155-160.
- ⁷⁵ Peyromaure M, Thiounn N, Scotté F, et al. Collecting duct carcinoma of the kidney: a clinicopathological study of 9 cases *J Urol*. 2003; 170 :1138-40.

-
- ⁷⁶ Rodríguez-Jurado R, González-Crussi F. Renal medullary carcinoma. Immunohistochemical and ultrastructural observations. *J Urol Pathol.* 1996;4:191-203.
- ⁷⁷ Avery RA, Harris JE, Davis CJ Jr, et al. Renal medullary carcinoma: clinical and therapeutic aspects of a newly described tumor. *Cancer* 1996;78:128-132.
- ⁷⁸ Dimashkieh H, Choe J, Mutema G. Renal medullary carcinoma. A report of 2 cases and review of the literature. *Arch Pathol Lab Med.* 2003;127:135-138.
- ⁷⁹ Srigley JR.: Mucinous tubular and spindle cell carcinoma In Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA World Health Organization Classification of tumours. Pathology and Genetics Tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon 2004.40,IARC Press.
- ⁸⁰ Skinnider BF, Folpe AL, Hennigar RA, et al. Distribution of cytokeratins and vimentin in adult renal neoplasms and normal renal tissue. Potential utility of a cytokeratin antibody panel in the differential diagnosis of renal tumors. *Am J Surg Pathol.* 2005;29:747-754.
- ⁸¹ Rakozy C, Schmahl GE, Bogner S, et al. Low-grade tubular mucinous renal neoplasms: Morphologic, immunohistochemical, and genetic features. *Mod Pathol.* 2002;15:1162-1171.
- ⁸² MacLennan GT, Farrow GM, Bostwick DG. Low-grade collecting duct carcinoma of the kidney: report of 13 cases of low-grade mucinous tubulocystic renal carcinoma of possible collecting duct origin. *Urology.* 1997;50:679-684.
- ⁸³ Bleumer I, Oosterwijk E, De Mulder P, et al. Immunotherapy for renal cell carcinoma. *Eur Urol.* 2003;44:65-75.
- ⁸⁴ Bullock N, Sibley, G., Whitaker, R. *Essential Urology.* Second ed: Churchill Livingstone; 1995.
- ⁸⁵ Kim HL, Belldegrun AS, Freitas DG, et al. Paraneoplastic signs and symptoms of renal cell carcinoma: implications for prognosis. *J Urol.* 2003;170:1742-6.
- ⁸⁶ Sufrin G, Golio A, Murphy GP. Serologic markers, paraneoplastic syndromes, and ectopic hormone production in renal adenocarcinoma. En: *Tumors of kidney*, JB De Kernion y MP Pavone Macaluso. Williams and Wilkins. Baltimore. 1986;51
- ⁸⁷ Landis SH, Murray T, Bolden S, et al. Cancer statistics, 1999. *CA Cancer J Clin.* 1999;49:8-31, 1.

- ⁸⁸ Sohma M, Okano S, Ohta T et al. Asymptomatic renal cell carcinoma detected by ultrasonographic mass screening. *Jpn J Med Ultrasound*. 1989;16: 276.
- ⁸⁹ Tosaka A, Ohya K, Yamada K, Ohashi H, et al. Incidence and properties of renal masses and asymptomatic renal cell carcinoma detected by abdominal ultrasonography. *J Urol*. 1990;144:1097-9.
- ⁹⁰ Spouge AR, Wilson SR, Wooley B. Abdominal sonography in asymptomatic executives: prevalence of pathologic findings, potential benefits, and problems. *J Ultrasound Med*. 1996;15:763-7.
- ⁹¹ Ljungberg B, Hanbury DC, Kuczyk MA, et al. Guidelines on Renal Cell Carcinoma. European Association of Urology. 2008.
- ⁹² Lattouf JB, Trinh QD, Saad F. The contemporary role of surgery in kidney cancer. *Curr Oncol* 2009;16:S8–S15.
- ⁹³ von Knobloch R, Seseke F, Riedmiller H, et al. Radical nephrectomy for renal cell carcinoma: Is adrenalectomy necessary? *Eur Urol*. 1999;36:303-8.
- ⁹⁴ Herr HW. Partial nephrectomy for unilateral renal carcinoma and a normal contralateral kidney: 10-year followup. *J Urol*. 1999;161:33-4.
- ⁹⁵ Hafez KS, Fergany AF, Novick AC. Nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: impact of tumor size on patient survival, tumor recurrence and TNM staging. *J Urol*. 1999;162:1930-3.
- ⁹⁶ Joniau S, Vander Eeckt K, Van Poppel H. The indications for partial nephrectomy in the treatment of renal cell carcinoma. *Nat Clin Pract Urol*. 2006;3:198-205.
- ⁹⁷ Margulis V, Matin SF, Wood CG. Cytoreductive nephrectomy in metastatic renal cell carcinoma. *Curr Opin Urol*. 2008;18:474-80.
- ⁹⁸ Kwan KG, Kapoor A. Cytoreductive nephrectomy in metastatic renal cell carcinoma: the evolving role of surgery in the era of molecular targeted therapy. *Curr Opin Support Palliat Care*. 2009 Jun 12. [Epub en prensa]
- ⁹⁹ Wood CG, Margulis V. Neoadjuvant (presurgical) therapy for renal cell carcinoma: a new treatment paradigm for locally advanced and metastatic disease. *Cancer*. 2009;115:2355-60.
- ¹⁰⁰ Lui KW, Gervais DA, Mueller PR. Radiofrequency ablation: an alternative treatment method of renal cell carcinoma. *Chang Gung Med J*. 2004;27:618-2

-
- ¹⁰¹ Lewin JS, Nour SG, Connell CF et al. Phase II clinical trial of interactive MR imaging-guided interstitial radiofrequency thermal ablation of primary kidney tumors: initial experience. *Radiology*. 2004;232:835-45.
- ¹⁰² Gill IS, Remer EM, Hasan WA, et al. Renal cryoablation: outcome at 3 years. *J Urol*. 2005;173:1903-7.
- ¹⁰³ Yagoda A, Petrylak D, Thompson S. Cytotoxic chemotherapy for advanced renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am*. 1993;20:303-321.
- ¹⁰⁴ Hartmann JT, Bokemeyer C. Chemotherapy for renal cell carcinoma. *Anticancer Res*. 1999;19:1541-1543.
- ¹⁰⁵ Drucker BJ. Renal cell carcinoma: current status and future prospects. *Cancer Treat Rev*. 2005;31:536-545.
- ¹⁰⁶ van Spronsen DJ, Mulders PF, De Mulder PH. Novel treatments for metastatic renal cell carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2005;55:177-191.
- ¹⁰⁷ Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA, et al. Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 2002 1;20:289-96.
- ¹⁰⁸ Coppin C, Porzolt F, Awa A, et al. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005; 25:CD001425.
- ¹⁰⁹ Rini BI, Flaherty K. Clinical effect and future considerations for molecularly-targeted therapy in renal cell carcinoma. *Urol Oncol*. 2008;26:543-9.
- ¹¹⁰ Rini BI, Campbell SC, Escudier B. Renal cell carcinoma. *Lancet*. 2009 Mar 28;373:1119-32. Epub 2009 Mar 5.
- ¹¹¹ Garcia JA, Rini BI. Recent progress in the management of advanced renal cell carcinoma. *CA Cancer J Clin* 2007;57:112-125.
- ¹¹² Cho D, Signoretti S, Regan M, et al. The role of mammalian target of rapamycin inhibitors in the treatment of advanced renal cancer. *Clin Cancer Res*. 2007;13:758-763.
- ¹¹³ Vakkalanka BK, Rini BI. Targeted therapy in renal cell carcinoma. *Curr Opin Urol*. 2008;18:481-7.
- ¹¹⁴ Motzer RJ, Bacik J, Mazumdar M. Prognostic Factors for Survival of Patients with Stage IV Renal Cell Carcinoma Memorial Sloan-Kettering Cancer Center Experience. *Clin Cancer Res*. 2004; 10: 6302-6303.

¹¹⁵ Karakiewicz P , Trinh Q, de la Taille A et al. ECOG performance status 0 or 1 and symptom classification do not improve the ability to predict renal cell carcinoma-specific survival. *Eur J Cancer*. 2007; 43: 1023-1029.

¹¹⁶ Motzer RJ, Mazumdar M et al. Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 1999; 17: 2530–40

¹¹⁷ Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ et al. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. *J Urol*. 2001; 166: 63–7.

¹¹⁸ Frank I, Blute ML, Cheville JC 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*. 2002; 168: 2395–400.

¹¹⁹ Mani S, Todd MB, Katz K et al. Prognostic factors for survival in patients with metastatic renal cancer treated with biological response modifiers. *J Urol*. 1995;154:35-40.

¹²⁰ Elson PJ, Witte RS, Trump DL. Prognostic factors for survival in patients with recurrent or metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Res*. 1988; 48: 7310–3

¹²¹ Shvarts O, Lam JS, Kim HL et al. Eastern Cooperative Oncology Group performance status predicts bone metastasis in patients presenting with renal cell carcinoma: implication for preoperative bone scans. *J Urol*. 2004;172:867-70.

¹²² Kim HL, Belldegrun AS, Freitas DG et al. Paraneoplastic signs and symptoms of renal cell carcinoma: implications for prognosis. *J Urol*. 2003;170:1742-6.

¹²³ Kim HL, Han KR, Zisman A et al. Cachexia-like symptoms predict a worse prognosis in localized t1 renal cell carcinoma. *J Urol*. 2004;171:1810-3.

¹²⁴ Sufrin G, Golio A, Murphy GP. Serologic markers, paraneoplastic síndromes, and ectopic hormone production in renal adenocarcinoma. En: *Tumors of kidney*, JB De Kernion y MP Pavone Macaluso. Williams and Wilkins. Baltimore. 1986;51

¹²⁵ Stauffer MH. Nephrogenic hepatosplenomegaly. *Gastroenterology*. 1961;40:694.

¹²⁶ Sufrin G, Golio A, Murphy GP. Serologic markers, paraneoplastic síndromes, and ectopic hormone production in renal adenocarcinoma. En: *Tumors of kidney*, JB De Kernion y MP Pavone Macaluso. Williams and Wilkins. Baltimore. 1986;51

-
- ¹²⁷ Odell WD. Paraendocrine syndromes of cancer. *Adv Intern Med.* 1989;34:325–352.
- ¹²⁸ Tashjian AH, Jr. Prostaglandins, hypercalcemia and cancer. *N Engl J Med.* 1975;293:1317–1318.
- ¹²⁹ McDougal WS, Garnick MB et al. Clinical signs and symptoms of renal cell carcinoma. In: Vogelzang NJ, Shipley WU, Scardino PT, et al., editors. *Comprehensive Textbook of Genitourinary Oncology.* Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1995. 154–159.
- ¹³⁰ Symbas NP, Townsend MF, El-Galley R et al. Poor prognosis associated with thrombocytosis in patients with renal cell carcinoma, *BJU Int.* 2000;86:203–207.
- ¹³¹ Gogus C, Baltaci S, Filiz E et al. Significance of thrombocytosis for determining prognosis in patients with localized renal cell carcinoma, *Urology.* 2004; 63 : 447–450.
- ¹³² Bensalah K, Leray E, Fergelot P et al. Prognostic value of thrombocytosis in renal cell carcinoma, *J Urol.* 2006; 175: 859–863
- ¹³³ Atzpodien J, Royston P, Wandert T et al. y DGCIN - German Cooperative Renal Carcinoma Chemo-Immunotherapy Trials Group. Metastatic renal carcinoma comprehensive prognostic system. *Br J Cancer.* 2003; 88: 348–353.
- ¹³⁴ Donskov F, von der Maase H. Impact of immune parameters on long-term survival in metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2006; 24:1997-2005.
- ¹³⁵ Papworth K, Grankvist K, Ljungberg B et al. Parathyroid hormone-related protein and serum calcium in patients with renal cell carcinoma. *Tumour Biol.* 2005;26:201-206.
- ¹³⁶ Kim HL, Belldegrun AS, Freitas DG et al. Paraneoplastic signs and symptoms of renal cell carcinoma: implications for prognosis. *J Urol.* 2003;170:1742-6.
- ¹³⁷ Kim HL, Han KR, Zisman A et al. Cachexia-like symptoms predict a worse prognosis in localized t1 renal cell carcinoma. *J Urol.* 2004;171:1810-3.
- ¹³⁸ Amin MB, Tamboli P, Javidan J et al. Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms. An experience of 405 cases. *Am J Surg Pathol* 2002;26:281-291.
- ¹³⁹ Cheville JC, Lohse CM, Zincke H et al. Comparisons of outcome and prognostic features among histological subtypes of renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol.* 2003;27:612-624

- ¹⁴⁰ Gudbjartsson T, Hardarson S, Petursdottir V et al. Histological subtyping and nuclear grading of renal cell carcinoma and their implications for survival: a retrospective nation-wide study of 629 patients. *Eur Urol*. 2005;48:593-600.
- ¹⁴¹ Moch H, Gasser T, Amin MB et al. Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging system of renal cell carcinoma: a Swiss experience with 588 tumors, *Cancer*.2000; 89: 604–614.
- ¹⁴² Ljungberg B, Alamdari FI, Stenling R et al. Prognostic significance of the Heidelberg classification of renal cell carcinoma. *Eur Urol*. 1999;36:565-569.
- ¹⁴³ Renshaw AA, Richie JP. Subtypes of renal carcinoma. Different onset and sites of metastatic disease. *Am J Clin Pathol*. 1999;111:539-549.
- ¹⁴⁴ Motzer RJ, Bacik J, Mariani T et al. Treatment outcome and survival associated with metastatic renal cell carcinoma of non-clear-cell histology, *J Clin Oncol*. 2002;20: 2376–2381.
- ¹⁴⁵ Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 1982;6:655-663.
- ¹⁴⁶ Bretheau D, Lechevallier E, de Fromont M et al. Prognostic value of nuclear grade of renal cell carcinoma. *Cancer*. 1995;76:2543-2549.
- ¹⁴⁷ Ficarra V, Righetti R, Martignoni G et al. Prognostic value of renal cell carcinoma nuclear grading: multivariate analysis of 333 cases. *Urol Int*. 2001;67:130-134.
- ¹⁴⁸ Tsui KH, Shvarts O, Smith RB et al. Prognostic indicators for renal cell carcinoma: a multivariate analysis of 643 patients using the revised 1997 TNM staging criteria. *J Urol*. 2000;163:1090-1095.
- ¹⁴⁹ Nelson EC, Evans CP, Lara PN. Renal cell carcinoma: current status and emerging therapies. *Cancer Treat Rev*. 2007;33:299-313.
- ¹⁵⁰ Frank I, Blute ML, Leibovich BC et al. pT2 classification for renal cell carcinoma. Can its accuracy be improved. *J Urol* . 2005;173: 380–384.
- ¹⁵¹ Klatte T, Patard JJ, Goel RH et al. Prognostic impact of tumor size on pT2 renal cell Carcinoma: an international multicenter experience. *J Urol*. 2007;178: 35–40.
- ¹⁵² Thompson RH, Leibovich BC, Cheville JC et al. Is renal sinus fat invasion the same as perinephric fat invasion for pT3a renal cell carcinoma. *J Urol*. 2005; 174: 1218–1221.

- ¹⁵³ Bonsib SM. The renal sinus is the principal invasive pathway. A prespective study of 100 renal cell carcinomas. *Am J Surg Pathol*. 2004;28:1594-1600.
- ¹⁵⁴ Siddiqui SA, Frank I, Leibovich BC et al. Impact of tumor size on the predictive ability of the pT3a primary tumor classification for renal cell carcinoma. *J Urol*. 2007; 177:59–62.
- ¹⁵⁵ Han KR, Bui MH, Pantuck AJ et al. TNM T3a renal cell carcinoma: adrenal gland involvement is not the same as renal fat invasion. *J Urol*. 2003; 169; 899–903.
- ¹⁵⁶ Thompson RH, Leibovich BC, Cheville JC et al. Should direct ipsilateral adrenal invasion from renal cell carcinoma be classified as pT3a. *J Urol*. 2005; 173: 918–921.
- ¹⁵⁷ Ficarra V, Novara G, Iafrate M, et al. Proposal for reclassification of the TNM staging system in patients with locally advanced (pT3-4) renal cell carcinoma according to the cancer-related outcome. *Eur Urol*. 2006.
- ¹⁵⁸ Heney NM, Nocks BN. The influence of perinephric fat involvement on survival in patients with renal cell carcinoma extending into the inferior vena cava. *J Urol*. 1982; 128: 18–20.
- ¹⁵⁹ Siemer S, Lehmann J, Loch A et al. Current TNM classification of renal cell carcinoma evaluated: revising stage T3a, *J Urol*. 2005; 173: 33–37.
- ¹⁶⁰ Sosa RE, Muecke EC, Vaughan ED et al. Renal cell carcinoma extending into the inferior vena cava: the prognostic significance of the level of vena caval involvement, *J Urol*. 1984; 132:1097–1100.
- ¹⁶¹ Staehler G, Brkovic D. The role of radical surgery for renal cell carcinoma with extension into the vena cava, *J Urol*. 2000;163:1671–1675.
- ¹⁶² Ljungberg B, Stenling R, Osterdahl B et al. Vein invasion in renal cell carcinoma: impact on metastatic behavior and survival, *J Urol*. 1995;154: 1681–1684.
- ¹⁶³ Moinzadeh A, Libertino JA. Prognostic significance of tumor thrombus level in patients with renal cell carcinoma and venous tumor thrombus extension. Is all T3b the same?, *J Urol*. 2004; 171:598–601.
- ¹⁶⁴ Kim HL, Zisman A, Han KR et al. Prognostic significance of venous thrombus in renal cell carcinoma. Are renal vein and inferior vena cava involvement different?, *J Urol*. 2004; 171:588–591.
- ¹⁶⁵ Pantuck AJ, Zisman A and Dorey F et al. Renal cell carcinoma with retroperitoneal lymph nodes: role of lymph node dissection, *J Urol*. 2003;169: 2076–2083.

- ¹⁶⁶ Pantuck AJ, Zisman A and Dorey F et al., Renal cell carcinoma with retroperitoneal lymph nodes. Impact on survival and benefits of immunotherapy, *Cancer*. 2003; 97:2995–3002.
- ¹⁶⁷ Blom JH, van Poppel H, Marechal JM et al: Radical nephrectomy with and without lymph node dissection: preliminary results of the EORTC randomized phase III protocol 30881. EORTC Genitourinary Group. *Eur Urol* 36: 570-5, 1999.
- ¹⁶⁸ Medical Research Council Renal Cancer, Collaborators, Interferon-alpha and survival in metastatic renal carcinoma: early results of a randomised controlled, trial, *Lancet*. 1999; 353: 14–17.
- ¹⁶⁹ Han KR, Pantuck AJ, Bui MH et al. Number of metastatic sites rather than location dictates overall survival of patients with node-negative metastatic renal cell carcinoma, *Urology*. 2003; 61:314–319.
- ¹⁷⁰ Kavolius JP, Mastorakos DP, Pavlovich C et al. Resection of metastatic renal cell carcinoma, *J Clin Oncol*. 1998;16: 2261–2266.
- ¹⁷¹ Kozlowski JM. Management of distant solitary recurrence in the patient with renal cancer. Contralateral kidney and other sites, *Urol Clin North Am*. 1994; 21:601–624.
- ¹⁷² O’Dea MJ, Zincke H, Utz DC et al. The treatment of renal cell carcinoma with solitary metastasis, *J Urol*. 1978; 120: 540–542.
- ¹⁷³ van der Poel HG, Roukema JA, Horenblas S et al. Metastasectomy in renal cell carcinoma: a multicenter retrospective analysis, *Eur Urol*. 1999; 35:197–203.
- ¹⁷⁴ Maldazys JD, deKernion JB. Prognostic factors in metastatic renal carcinoma, *J Urol*. 1986; 136:376–379.
- ¹⁷⁵ Frank I, Blute ML, Cheville JC 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*. 2002;168:2395-400.
- ¹⁷⁶ Lam JS, Shvarts O, Said JW et al. Clinicopathologic and molecular correlations of necrosis in the primary tumor of patients with renal cell carcinoma, *Cancer*. 2005; 103: 2517–2525.
- ¹⁷⁷ Uzzo RG, Cherullo EE, Myles J et al. Renal cell carcinoma invading the urinary collecting system: implications for staging, *J Urol*. 2002;167: 2392–2396.

- ¹⁷⁸ Palapattu GS, Pantuck AJ, Dorey F et al. Collecting system invasion in renal cell carcinoma: impact on prognosis and future staging strategies, *J Urol*. 2003; 170:768–772.
- ¹⁷⁹ Cangiano T, Liao J, Naitoh J et al. Sarcomatoid renal cell carcinoma: biologic behavior, prognosis, and response to combined surgical resection and immunotherapy, *J Clin Oncol*. 1999; 17:523–528.
- ¹⁸⁰ Van Poppel H, Vandendriessche H, Boel K et al. Microscopic vascular invasion is the most relevant prognosticator after radical nephrectomy for clinically nonmetastatic renal cell carcinoma, *J Urol*. 1997;158: 45–49.
- ¹⁸¹ Goncalves PD, Srougi M, Dall’lio MF et al. Low clinical stage renal cell carcinoma: relevance of microvascular tumor invasion as a prognostic parameter, *J Urol*. 2004; 172:470–474.
- ¹⁸² Lam JS, Seiler D, Leppert JT et al. Microvascular invasion is associated with aggressive clinicopathological features and is an independent predictor of survival for patients with clear cell renal cell carcinoma, *J Urol*. 2006;175:241.
- ¹⁸³ Webster WS, Lohse CM, Thompson RH et al. Mononuclear cell infiltration in clear-cell renal cell carcinoma independently predicts patient survival, *Cancer*. 2006; 107:46–53.
- ¹⁸⁴ Kolbeck PC, Kaveggia FF, Johansson SL et al. The relationships among tumor-infiltrating lymphocytes, histopathologic findings, and long-term clinical follow-up in renal cell carcinoma. *Mod Pathol*. 1992;5:420-5.
- ¹⁸⁵ Tunuguntla HS, Jorda M. Diagnostic and prognostic molecular markers in renal cell carcinoma. *J Urol*. 2008;179:2096-102.
- ¹⁸⁶ Nogueira M, Kim HL. Molecular markers for predicting prognosis of renal cell carcinoma. *Urol Oncol*. 2008;26:113-24.
- ¹⁸⁷ Takahashi M, Rhodes DR, Furge KA et al. Gene expression profiling of clear cell renal cell carcinoma: Gene identification and prognostic classification, *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001; 98:9754–9759.
- ¹⁸⁸ Huang A, Fone PD, Gandour-Edwards R et al. Immunohistochemical analysis of BCL-2 protein expression in renal cell carcinoma. *J Urol*. 1999;162:610-613.
- ¹⁸⁹ Vasavada SP, Novick AC, Williams BR. P53, bcl-2, and Bax expression in renal cell carcinoma. *Urology* 1998; 51:1057–1061.

¹⁹⁰ Itoi T, Yamana K, Bilim V et al. Impact of frequent Bcl-2 expression on better prognosis in renal cell carcinoma patients. *Br J Cancer*.2004; 90:200–205.

¹⁹¹ Li F. Role of survivin and its splice variants in tumorigenesis. *Br J Cancer* 2005; 92:212–216.

¹⁹² Verhagen M, Coulson EJ, Vaux DL. Inhibitor of apoptosis proteins and their relatives: IAPs and other BIRPs. *Genome Biol*. 2001;2: 3009.

¹⁹³ Parker AS, Kosari F, Lohse CM et al. High expression levels of survivin protein independently predict a poor outcome for patients who undergo surgery for clear cell renal cell carcinoma. *Cancer* 2006; 107: 37–45.

¹⁹⁴ Gerdes J, Lemke H, Baisch H et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67, *J Immunol* 1984; 13: 1710–1715.

¹⁹⁵ Zhang X, Takenaka I. Cell proliferation and apoptosis with BCL-2 expression in renal cell carcinoma, *Urology*. 2000; 56:510–515.

¹⁹⁶ Rioux-Leclercq N, Turlin B, Bansard J et al. Value of immunohistochemical Ki-67 and p53 determinations as predictive factors of outcome in renal cell carcinoma, *Urology*. 2000; 55: 501–505.

¹⁹⁷ Lam JS, Klatter T, Kim HL et al. Prognostic factors and selection for clinical studies of patients with kidney cancer. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2008;65:235-262.

¹⁹⁸ Lane DP. p53, guardian of the genome, *Nature* 1992;358: 15–16.

¹⁹⁹ Moch H, Sauter G, Gasser TC et al. p53 protein expression but not mdm-2 protein expression is associated with rapid tumor cell proliferation and prognosis in renal cell carcinoma, *Urol Res*. 1997; 25:25–30.

²⁰⁰ Zigeuner R, Ratschek M, Rehak P et al. Value of p53 as a prognostic marker in histologic subtypes of renal cell carcinoma: a systematic analysis of primary and metastatic tumor tissue, *Urology*. 2004; 63: 651–655.

²⁰¹ Shvarts O, Seligson D et al. p53 is an independent predictor of tumor recurrence and progression after nephrectomy in patients with localized renal cell carcinoma, *J Urol*. 2005; 173:725–728.

²⁰² Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene, *Nature*. 1991; 351: 453–456.

- ²⁰³ Lloyd RV, Erickson LA, Jin L et al. p27kip1: A multifunctional cyclin-dependent kinase inhibitor with prognostic significance in human cancers, *Am J Pathol.* 1999; 154: 313–323.
- ²⁰⁴ Langner C, von Wasielewski R, Ratschek M et al. Biological significance of p27 and Skp2 expression in renal cell carcinoma A systematic analysis of primary and metastatic tumor tissues using a tissue microarray technique, *Virchows Arch.* 2004; 445: 631–636.
- ²⁰⁵ Hedberg Y, Davoodi E, Ljungberg B et al. Cyclin E and p27 protein content in human renal cell carcinoma: Clinical outcome and associations with cyclin D, *Int J Cancer.* 2002; 102:601–607.
- ²⁰⁶ Hedberg Y, Ljungberg B, Roos G et al. Expression of cyclin D1, D3, E, and p27 in human renal cell carcinoma analyzed by tissue microarray, *Br J Cancer.* 2003; 88:1417–1423.
- ²⁰⁷ Brenner W, Färber G, Herget T et al. Loss of tumor suppressor protein PTEN during renal carcinogenesis. *Int J Cancer.* 2002;99:53-7.
- ²⁰⁸ Hara S, Oya M, Mizuno R et al. Akt activation in renal cell carcinoma: contribution of a decreased PTEN expression and the induction of apoptosis by an Akt inhibitor. *Ann Oncol.* 2005;16:928-33.
- ²⁰⁹ Paradis V, Ferlicot S, Ghannam E et al. CD44 is an independent prognostic factor in conventional renal cell carcinomas, *J Urol.* 1999; 161:1984–1987.
- ²¹⁰ Gilcrease MZ, Guzman-Paz M, Niehans G et al. Correlation of CD44S expression in renal clear cell carcinomas with subsequent tumor progression or recurrence, *Cancer.* 1999; 86:2320–2326.
- ²¹¹ Dong H, Zhu G, Tamada K and Chen L. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion, *Nat Med.* 1999; 5:1365–1369.
- ²¹² Dong H, Strome SE, Salomao DR et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion, *Nat Med.* 2002; 8:793–800.
- ²¹³ Latchman YE, Liang SC, Wu Y et al. PD-L1-deficient mice show that PD-L1 on T cells, antigen-presenting cells, and host tissues negatively regulates T cells, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004; 101:10691–10696.
- ²¹⁴ Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC et al. Costimulatory B7-H1 in renal cell carcinoma patients: indicator of tumor aggressiveness and potential therapeutic target, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:17174–17179

- ²¹⁵ Thompson RH, Gillett MD, Cheville JC et al. Costimulatory molecule B7-H1 in primary and metastatic clear cell renal cell carcinoma, *Cancer*. 2005;104:2084–2091.
- ²¹⁶ Thompson RH, Kuntz SM, Leibovich BC et al. Tumor B7-H1 is associated with poor prognosis in renal cell carcinoma patients with long-term follow-up, *Cancer Res*. 2006; 66:3381–3385.
- ²¹⁷ Krambeck AE, Thompson RH, Dong H et al. B7-H4 expression in renal cell carcinoma and tumor vasculature: associations with cancer progression and survival. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:10391–10396.
- ²¹⁸ Lein M, Jung K, Laube C et al. Matrix-metalloproteinases and their inhibitors in plasma and tumor tissue of patients with renal cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2000; 85: 801–804
- ²¹⁹ Kallakury BV, Karikehalli S, Haholu A et al. Increased expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 and 2 correlate with poor prognostic variables in renal cell carcinoma, *Clin Cancer Res*. 2001; 7:3113–3119.
- ²²⁰ Cho NH, Shim HS, Rha SY et al. Increased expression of matrix metalloproteinase 9 correlates with poor prognostic variables in renal cell carcinoma, *Eur Urol*. 2003; 44:560–566.
- ²²¹ Tanaka M, Mullauer L, Ogiso Y et al. Gelsolin: a candidate for suppressor of human bladder cancer. *Cancer Res*. 1995; 55:3228–3232.
- ²²² Lee HK, Driscoll D, Asch H et al. Downregulated gelsolin expression in hyperplastic and neoplastic lesions of the prostate. *Prostate*. 1999; 40:14–19.
- ²²³ Thor AD, Edgerton SM, Liu S et al. Gelsolin as a negative prognostic factor and effector of motility in erbB-2-positive epidermal growth factor receptor-positive breast cancers. *Clin Cancer Res*. 2001; 7:2415–2424
- ²²⁴ Lueck A, Brown D, Kwiatkowski DJ. The actin-binding proteins adseverin and gelsolin are both highly expressed but differentially localized in kidney and intestine. *J Cell Sci*. 1998; 111:3633–3643.
- ²²⁵ Visapa H, Bui M, Huang Y, et al. Correlation of Ki-67 and gelsolin expression to clinical outcome in renal clear cell carcinoma. *Urology*. 2003;61: 845-850.
- ²²⁶ Lam JS, Pantuck AJ, Beldegrun AS et al. G250: a carbonic anhydrase IX monoclonal antibody, *Curr Oncol Rep* . 2005;7:109–115.

- ²²⁷ Murakami Y, Kanda K, Tsuji M et al. MN/CA9 gene expression as a potential biomarker in renal cell carcinoma, *BJU Int.* 1999; 83:743–747.
- ²²⁸ Ivanov S, Liao SY, Ivanova A et al. Expression of hypoxia-inducible cell-surface transmembrane carbonic anhydrases in human cancer, *Am J Pathol.* 2001;158: 905–919.
- ²²⁹ Oosterwijk E, Ruiters DJ, Hoedemaeker PJ et al. Monoclonal antibody G 250 recognizes a determinant present in renal-cell carcinoma and absent from normal kidney, *Int J Cancer.* 1986; 38:489–494.
- ²³⁰ Liao SY, Aurelio ON, Jan K et al. Identification of the MN/CA9 protein as a reliable diagnostic biomarker of clear cell carcinoma of the kidney, *Cancer Res.* 1997;57:2827–2831.
- ²³¹ Grabmaier K, AdW MC, Verhaegh GW et al. Strict regulation of CAIX(G250/MN) by HIF-1 alpha in clear cell renal cell carcinoma, *Oncogene.* 2004; 23:5624–5631.
- ²³² Mandriota SJ, Turner KJ, Davies DR et al. HIF activation identifies early lesions in VHL kidneys: evidence for site-specific tumor suppressor function in the nephron, *Cancer Cell.* 2002; 1:459–468.
- ²³³ Bui MH, Seligson D, Han KR et al. Carbonic anhydrase IX is an independent predictor of survival in advanced renal clear cell carcinoma: implications for prognosis and therapy. *Clin Cancer Res.* 2003; 9:802–811.
- ²³⁴ Atkins M, Regan M, McDermott D et al. Carbonic anhydrase IX expression predicts outcome of interleukin 2 therapy for renal cancer, *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 3714–3721
- ²³⁵ Gilbert SM, Whitson JM, Mansukhani M et al. Detection of carbonic anhydrase-9 gene expression in peripheral blood cells predicts risk of disease recurrence in patients with renal cortical tumors, *Urology.* 2006; 67:942–945.
- ²³⁶ Uemura H, Fujimoto K, Tanaka M et al. A phase I trial of vaccination of CA9-derived peptides for HLA-A24-positive patients with cytokine-refractory metastatic renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2006;12:1768-75.
- ²³⁷ Bleumer I, Tiemessen DM, Oosterwijk-Wakka JC et al. Preliminary analysis of patients with progressive renal cell carcinoma vaccinated with CA9-peptide-pulsed mature dendritic cells. *J Immunother.* 2007;30:116-22.

- ²³⁸ Lamers CH, Sleijfer S, Vulto AG et al. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with autologous T-lymphocytes genetically retargeted against carbonic anhydrase IX: First clinical experience. *J Clin Oncol.* 2006;24:20-2.
- ²³⁹ Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000;100:57-70.
- ²⁴⁰ Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature.* 1997;386:671-4.
- ²⁴¹ Jain RK. Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med.* 2003;9:685-693.
- ²⁴² Hillen F, Griffioen AW. Tumour vascularization: sprouting angiogenesis and beyond. *Cancer Metastasis Rev.* 2007; 26:489
- ²⁴³ Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol.* 2002;20:4368-80.
- ²⁴⁴ Park JE, Keller GA, Ferrara N. The vascular endothelial growth factor (VEGF) isoforms: differential deposition into the subepithelial extracellular matrix and bioactivity of extracellular matrix-bound VEGF. *Mol Biol Cell.* 1993;4:1317-26.
- ²⁴⁵ Board RE, Thistlethwaite FC, Hawkins RE. Anti-angiogenic therapy in the treatment of advanced renal cell cancer. *Cancer Treat Rev.* 2007;33:1-8.
- ²⁴⁶ Gupta MK, Qin RY. Mechanism and its regulation of tumor-induced angiogenesis. *World J Gastroenterol.* 2003;9:1144-1155.
- ²⁴⁷ Seizinger BR, Rouleau GA, Ozelius LJ et al. Von Hippel-Lindau disease maps to the region of chromosome 3 associated with renal cell carcinoma. *Nature.* 1988;332:268-9.
- ²⁴⁸ Latif F, Tory K, Gnarr J, Yao et al. Science. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. 1993;260:1317-20.
- ²⁴⁹ Kuzmin I, Duh FM, Latif F et al. Identification of the promoter of the human von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. *Oncogene.* 1995;10:2185-94.
- ²⁵⁰ Iliopoulos O, Ohh M, Kaelin WG. pVHL19 is a biologically active product of the von Hippel-Lindau gene arising from internal translation initiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Sep 29;95:11661-6.
- ²⁵¹ Blankenship C, Naglich JG, Whaley JM et al. Alternate choice of initiation codon produces a biologically active product of the von Hippel Lindau gene with tumor suppressor activity. *Oncogene.* 1999;18:1529-35.

-
- ²⁵² Bratslavsky G, Sudarshan S, Neckers L et al. Pseudohypoxic pathways in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2007;13:4667-71.
- ²⁵³ Kamura T, Sato S, Haque D et al. The Elongin BC complex interacts with the conserved SOCS-box motif present in members of the SOCS, ras, WD-40 repeat, and ankyrin repeat families. *Genes Dev.* 1998 ;12:3872-81.
- ²⁵⁴ Ivan M, Kondo K, Yang H et al. HIF alpha targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing. *Science* 2001; 292:464-8.
- ²⁵⁵ Jaakola P, Mole DR, Tian Y-M et al. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science* 2001;292:468-472.
- ²⁵⁶ Bárdos JI, Ashcroft M. Hypoxia-inducible factor-1 and oncogenic signalling. *Bioessays.* 2004 ;26:262-9.
- ²⁵⁷ Wiesener MS, Turley H, Allen WE et al. Induction of endothelial PAS domain protein-1 by hypoxia: characterization and comparison with hypoxia-inducible factor-1 α . *Blood.* 1998 ;92:2260-8.
- ²⁵⁸ Gruber M, Simon MC. Hypoxia-inducible factors, hypoxia, and tumor angiogenesis. *Curr Opin Hematol.* 2006 ;13:169-74.
- ²⁵⁹ Makino Y, Cao R, Svensson K et al. Inhibitory PAS domain protein is a negative regulator of hypoxia-inducible gene expression. *Nature.* 2001;414:550-4.
- ²⁶⁰ Wenger RH. Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors and O₂-regulated gene expression. *FASEB J.* 2002;16:1151-1162.
- ²⁶¹ Choueiri TK, Vaziri SA, Jaeger E et al. Von Hippel-Lindau gene status and response to vascular endothelial growth factor targeted therapy for metastatic clear cell renal cell carcinoma. *J Urol.* 2008 ;180:860-5
- ²⁶² Semenza G. Signal transduction to hypoxia-inducible factor 1. *Biochem Pharmacol.* 2002;64:993-8.
- ²⁶³ Minet E, Michel G, Mottet D et al. Transduction pathways involved in Hypoxia-Inducible Factor-1 phosphorylation and activation. *Free Radic Biol Med.* 2001;31:847-55.
- ²⁶⁴ Park JY, Lin PY, Weiss RH. Targeting the PI3K-Akt pathway in kidney cancer. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2007;7:863-70.

²⁶⁵ Brenner W, Färber G, Herget T et al. Loss of tumor suppressor protein PTEN during renal carcinogenesis. *Int J Cancer*. 2002;99:53-7.

²⁶⁶ Alimov A, Li C, Gizatullin R et al. Somatic mutation and homozygous deletion of PTEN/MMAC1 gene of 10q23 in renal cell carcinoma. *Anticancer Res*. 1999;19:3841-6.

²⁶⁷ Figlin RA, Seligson D, Wu H. Characterization of the mTOR pathway in renal cell carcinoma and its use in predicting patient selection for agents targeting this pathway. *Proc Am Soc Clin Oncol*. 2005; abstract 4539

²⁶⁸ Dutcher JP. Mammalian Target of Rapamycin Inhibition. *Clin Cancer Res* 2004;10:6382-7.

²⁶⁹ Hidalgo M, Rowinsky EK. The rapamycin-sensitive signal transduction pathway as a target for cancer therapy. *Oncogene* 2000;19:6680-6.

²⁷⁰ Iliopoulos O, Levy AP, Jiang C et al. Negative regulation of hypoxia-inducible genes by the von Hippel-Lindau protein. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:10595-9.

²⁷¹ Hudson CC, Liu M, Chiang GG et al. Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha expression and function by the mammalian target of rapamycin. *Mol Cell Biol*. 2002;22:7004-14.

²⁷² Tee AR, Fingar DC, Manning BD et al. Tuberous sclerosis complex-1 and -2 gene products function together to inhibit mammalian target of rapamycin (mTOR)-mediated downstream signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:13571-6.

²⁷³ Zhang H, Cicchetti G, Onda H et al. Loss of Tsc1/Tsc2 activates mTOR and disrupts PI3K-Akt signaling through downregulation of PDGFR. *J Clin Invest*. 2003 ;112:1223-33.

²⁷⁴ Sawhney R, Kabbinavar F. Angiogenesis and angiogenic inhibitors in renal cell carcinoma. *Curr Urol Rep*. 2008;9:26-33.

²⁷⁵ Lundberg AS, Weinberg RA. Control of the cell cycle and apoptosis. *Eur J Cancer*. 1999;35:1886-94.

²⁷⁶ Bates DO, Cui TG, Doughty JM, et al. VEGF165b, an inhibitory splice variant of vascular endothelial growth factor, is down-regulated in renal cell carcinoma. *Cancer Res*. 2002;62:4123-31.

²⁷⁷ Kerbel RS. Tumor angiogenesis. *N Engl J Med*. 2008;358:2039-49.

- ²⁷⁸ Rak J, Filmus J, Finkenzeller G et al. Oncogenes as inducers of tumor angiogenesis. *Cancer Metastasis Rev.* 1995;14:263-77.
- ²⁷⁹ Aaltomaa S, Lipponen P, Ala-Opas M et al. Expression of cyclins A and D and p21(waf1/cip1) proteins in renal cell cancer and their relation to clinicopathological variables and patient survival. *Br J Cancer.* 1999; 80:2001-7.
- ²⁸⁰ Vasavada SP, Novick AC, Williams BR. P53, bcl-2, and Bax expression in renal cell carcinoma. *Urology.* 1998;51:1057-61.
- ²⁸¹ Gabrilovich DI, Chen HL, Girgis KR et al. Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. *Nat Med.* 1996;20:1096-103.
- ²⁸² Weidner N, Semple JP, Welch WR et al. Tumor angiogenesis and metastasis correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med.* 1991;324:1-8.
- ²⁸³ Hlatky L, Hahnfeldt P, Folkman J. Clinical application of antiangiogenic therapy: microvessel density, what it does and doesn't tell us. *J Natl Cancer Inst.* 2002;94:883-893.
- ²⁸⁴ Sharma S, Sharma MC, Sarkar C. Morphology of angiogenesis in human cancer: a conceptual overview, histoprostic perspective and significance of neoangiogenesis. *Histopathology.* 2005;46:481-489.
- ²⁸⁵ Fox SB, Harris AL. Histological quantitation of tumour angiogenesis. *Apmis.* 2004;112:413-430.
- ²⁸⁶ Herbst C, Kosmehl H, Stiller KJ et al. Evaluation of microvessel density by computerised image analysis in human renal cell carcinoma. Correlation to pT category, nuclear grade, proliferative activity and occurrence of metastasis. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1998;124:141-147.
- ²⁸⁷ Kinouchi T, Mano M, Matsuoka I et al. Immature tumor angiogenesis in high-grade and high-stage renal cell carcinoma. *Urology.* 2003;62:765-770.
- ²⁸⁸ Imao T, Egawa M, Takashima H et al. Inverse correlation of microvessel density with metastasis and prognosis in renal cell carcinoma. *Int J Urol.* 2004;11.:948-953.
- ²⁸⁹ Yao X, Qian CN, Zhang ZF et al. Two distinct types of blood vessels in clear cell renal cell carcinoma have contrasting prognostic implications, *Clin Cancer Res.* 2007;13: 161–169.
- ²⁹⁰ Ries LAG et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2004;2007.

²⁹¹ Leibovich BC, Blute ML et al. Nephron sparing surgery for appropriately selected renal cell carcinoma between 4 and 7 cm results in outcome similar to radical nephrectomy. *J Urol* 2004; 171: 1066-70.

²⁹² Patard JJ, Shvarts O, Lam JS et al. Safety and efficacy of partial nephrectomy for all T1 tumors based on an international multicenter experience. *J Urol* 2004; 171: 2181-5.

²⁹³ Lam JS, Shavrts O, Alemozaffar M. Nephron-sparing surgery as the new gold standard for T1 (<=7 cm) renal cell carcinoma: results of a contemporary UCLA series. *J Urol* .2004;171: 469.

²⁹⁴ Mitchell RE, Gilbert SM, Murphy CA et al. Partial nephrectomy and radical nephrectomy offer similar cancer outcomes in renal cortical tumors 4 cm or larger. *Urology* 2006; 67: 260-264.

²⁹⁵ Terrone S, Guercio S, De Luca S et al. The number of lymph nodes examined and staging accuracy in renal cell carcinoma. *BJU Int*. 2003; 91: 37-40.

²⁹⁶ Canfield SE, Kamat AM, Sanchez-Ortiz RF et al. Renal cell carcinoma with nodal metastases in the absence of distant metastatic disease (clinical stage TxN1-2M0): the impact of aggressive surgical resection on patient outcome, *J Urol*.2006; 175:864–869.

²⁹⁷ Vasselli JR, Yang JC, Linehan WM et al. Lack of retroperitoneal lymphadenopathy predicts survival of patients with metastatic renal cell carcinoma, *J Urol*. 2001; 166:68–72.

²⁹⁸ Delahunt B, Eble JN, McCredie MR et al. Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases, *Hum Pathol*. 2001;32:590–595.

²⁹⁹ Corica FA, Iczkowski A, Cheng, I et al. Cystic renal cell carcinoma is cured by resection: a study of 24 cases with long-term followup. *J Urol*.1999;161: 408.

³⁰⁰ O'Brien PK, Clerk N. Multilocular cystic renal cell carcinoma. *Am J Clin Pathol*. 1991; 96: 780.

³⁰¹ Eun-Jung Jung, Hyun Ju Lee, Cheol Kwak et al. Young Age Is Independent Prognostic Factor for Cancer-Specific Survival of Low-Stage Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *J Urol* 2009;73 :137-141.

³⁰² Masuda H, Kurita Y, Suzuki A et al. Prognostic Factors for Renal Cell Carcinoma: A Multivariate Analysis of 320 Cases. *Int J Urol* 2007;43: 247 - 253

-
- ³⁰³ Yao M, Yoshida M, Kishida T *et al.* VHL tumor suppressor gene alterations associated with good prognosis in sporadic clear-cell renal carcinoma, *J Natl Cancer Inst.* 2002; 94: 1569
- ³⁰⁴ Skapa P, Hyrsi L, Zavada J *et al.* Carbonic anhydrase IX expression in clear cell renal cell carcinomas negatively correlates with the proportion of the granular cell component. *J Clin Oncol.* 2008;26:3809-11
- ³⁰⁵ Oosterwijk E. Carbonic anhydrase IX: historical and future perspectives. *BJU Int* 2008; 101 :2-7
- ³⁰⁶ Yang CC, Chu KC, Yeh WM. Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Renal Cell Carcinoma Is Correlated With Cancer Advancement. *J Clin Lab Anal* 2003;17:85–89
- ³⁰⁷ Folkman J. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med* 1995;333:1757–1763.
- ³⁰⁸ Helmlinger G, Endo M, Ferrara N *et al.* Formation of endothelial cell networks. *Nature* 2000;405:139–141.
- ³⁰⁹ Paradis V, Lagha NB, Zeimoura L *et al.* Expression of vascular endothelial growth factor in renal cell carcinomas. *Virchows Arch* 2000;436:351–356.
- ³¹⁰ Jacobsen J, Grankvist K, Rasmuson T *et al.* Expression of vascular endothelial growth factor protein in human renal cell carcinoma. *BJU Int* 2004;93: 297–302.
- ³¹¹ Phuoc NB, Ehara H, Gotoh T *et al.* Prognostic value of the co-expression of carbonic anhydrase IX and vascular endothelial growth factor in patients with clear cell renal cell carcinoma. *Oncol Rep.* 2008;20:525-30.
- ³¹² Raica M, Cimpean AM, Anghel A. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) does not correlate with microvessel density in renal cell carcinoma. *Neoplasma* 2007;54:278-84.
- ³¹³ Oya M. Renal Cell Carcinoma: Biological Features and Rationale for Molecular-Targeted Therapy. *Keio J Med.* 2009;58:1-11.
- ³¹⁴ Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K *et al.* PTEN, a putative protein tyrosine phosphatase gene mutated in human brain, breast, and prostate cancer. *Science.* 1997; 28;275:1943-7

- ³¹⁵ Shin Lee J, Seok Kim H, Bok Kim Y et al. Expression of PTEN in renal cell carcinoma and its relation to tumor behavior and growth. *J Surg Oncol*. 2003;84:166-72.
- ³¹⁶ Blanco-Aparicio C, Renner O, Leal JF et al. PTEN, more than the AKT pathway. *Carcinogenesis*. 2007;28:1379-86.
- ³¹⁷ Pantuck AJ, Seligson DB, Klatte T et al. Prognostic relevance of the mTOR pathway in renal cell carcinoma: implications for molecular patient selection for targeted therapy. *Cancer* 2007; 109: 11: 2257-67
- ³¹⁸ Kondo K, Yao M, Kobayashi K et al. PTEN/MMAC1/TEP1 mutations in human primary renal-cell carcinomas and renal carcinoma cell lines. *Int J Cancer* 2001; 15;91:219-24.
- ³¹⁹ Hager M, Haufe H, Kemmerling R et al. PTEN expression in renal cell carcinoma and oncocytoma and prognosis. *Pathology*. 2007;39:482-5.
- ³²⁰ He L, Fan C, Gillis A et al. Co-existence of high levels of the PTEN protein with enhanced Akt activation in renal cell carcinoma. *Biochimica et Biophysica Acta* 2007;1772:1134-42
- ³²¹ Velickovic M, Delahunt B, McIver B et al. Intragenic PTEN/MMAC1 loss of heterozygosity in conventional (clear-cell) renal cell carcinoma is associated with poor patient prognosis. *Mod Pathol* 2002;15:479–85
- ³²² Merseburger AS, Hennenlotter J, Kuehs U et al. Activation of PI3K is associated with reduced survival in renal cell carcinoma. *Urol internat* 2008;80:372-7.
- ³²³ Hager M, Haufe H, Kemmerling R et al. Increased Activated Akt Expression in Renal Cell Carcinomas and Prognosis. *J Cell Mol Med* 2008 4. Epub ahead of print.
- ³²⁴ Rioux-Leclercq N, Epstein JI, Bansard JY *et al.*, Clinical significance of cell proliferation, microvessel density, and CD44 adhesion molecule expression in renal cell carcinoma, *Hum Pathol* 2001;32:1209–1215
- ³²⁵ Sabo E, Boltenko A, Sova Y et al. Microscopic analysis and significance of vascular architectural complexity in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001;7: 533–537.
- ³²⁶ Joo HJ, Oh DK, Kim YS et al. Increased expression of caveolin-1 and microvessel density correlates with metastasis and poor prognosis in clear cell renal cell carcinoma, *BJU Int* 2004;93:291–296.

- ³²⁷ Yoshino S, Kato M, Okada K. Prognostic significance of microvessel count in low stage renal cell carcinoma, *Int J Urol* 1995;2:156–160.
- ³²⁸ MacLennan GT, Bostwick DG. Microvessel density in renal cell carcinoma: lack of prognostic significance. *Urol* 1995;46:27-30.
- ³²⁹ Mikami S, Oya M, Mizuno R et al. Expression of Ets-1 in human clear cell renal cell carcinomas: implications for angiogenesis. *Cancer Sci.* 2006;97:875-882.
- ³³⁰ Sandlund J, Hedberg Y, Bergh A et al. Evaluation of CD31 (PECAM-1) expression using tissue microarray in patients with renal cell carcinoma. *Tumour Biol.* 2007;28:158-64. Epub 2007 May 18.
- ³³¹ Zhang X, Yamashita M, Uetsuki H et al. Angiogenesis in renal cell carcinoma: Evaluation of microvessel density, vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinases. *Int J Urol.* 2002;9:509-14.
- ³³² Djordjevic G, Mozetic V, Mozetic DV. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor expression in clear cell renal cell carcinoma. *Pathol Res Practice* 2007;203;2: 99-106
- ³³³ Eberhard A, Kahlert S, Goede V et al. Heterogeneity of angiogenesis and blood vessel maturation in human tumors: implications for antiangiogenic tumor therapies. *Cancer Res.* 2000;60:1388-1393.
- ³³⁴ Rak J, Yu JL. Oncogenes and tumor angiogenesis: the question of vascular "supply" and vascular "demand". *Semin Cancer Biol.* 2004;14:93-104.
- ³³⁵ Onda H, Yasuda M, Serizawa A et al. Clinical outcome in localized renal cell carcinomas related to immunoexpression of proliferating cell nuclear antigen, Ki-67 antigen, and tumor size. *Oncol Rep* 1999;6:1039–43.
- ³³⁶ Kallio JP, Hirvikoski P, Helin H et al. Renal cell carcinoma MIB-1, Bax, and Bcl-2 expression and prognosis. *J Urol* 2004;172:2158 – 61.
- ³³⁷ Yildiz E, Gokce G, Kilicarslan H et al. Prognostic value of the expression of Ki-67, CD44, and vascular endothelial growth factor and microvessel invasion, in renal cell carcinoma. *BJU Int* 2004;93:1087–93.
- ³³⁸ Bui MH, Visapaa H, Seligson D et al. Prognostic value of carbonic anhydrase IX and KI67 as predictors of survival for renal clear cell carcinoma. *J Urol* 2004;171:2461– 6.

- ³³⁹ Delahunt B, Bethwaite PB, Thornton A et al. Proliferation of renal cell carcinoma assessed by fixation-resistant polyclonal Ki-67 antibody labeling. Correlation with clinical outcome. *Cancer* 1995; 75: 2714-9.
- ³⁴⁰ de Riese WT, Crabtree WN, Allhoff EP et al. Prognostic significance of Ki-67 immunostaining in nonmetastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 1993; 11:1804-8.
- ³⁴¹ Kim HL, Seligson D, Liu X et al. Using protein expressions to predict survival in clear cell renal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004;10:5464 –71.
- ³⁴² Cheville JC, Zincke H, Lohse CM et al. pT1 clear cell renal cell carcinoma: A study of the association between MIB-1 proliferative activity and pathologic features and cancer specific survival. *Cancer* 2002;94:2180–4.
- ³⁴³ Gelb AB, Sudilovsky D, Wu CD et al. Appraisal of intratumoral microvessel density, MIB-1 score, DNA content, and p53 protein expression as prognostic indicators in patients with locally confined renal cell carcinoma. *Cancer* 1997;80:1768 –75.
- ³⁴⁴ Lee CT, Genega EM, Hutchinson B et al. Conventional (clear cell) renal carcinoma metastases have greater bcl-2 expression than high-risk primary tumors. *Urol Oncol*. 2003;21:179-84.