

UNIVERSIDAD DE ALCALÁ
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA



**“EXPRESIÓN DE MARCADORES DE PROLIFERACIÓN
Y APOPTOSIS, NECROSIS TUMORAL E INFILTRADO
INFLAMATORIO Y SU SIGNIFICADO PRONÓSTICO
EN EL CARCINOMA DE CÉLULAS RENALES”**

TESIS DOCTORAL

ANA BLASCO MARTÍNEZ

2010

A Antonio Ruiz Villaespesa

“Nunca se da tanto como cuando se dan esperanzas”

Anatole France

Agradecimientos:

*A todas las personas que han colaborado
y me han apoyado
en la realización de esta Tesis.*

ABREVIATURAS

- ACTH: Hormona adrenocorticotropa.
- AgNOR: Proteínas asociadas a las regiones organizadoras nucleolares argirófilas.
- AKT-mTOR: *AKT-mamalian target of rapamycin*.
- ARNm: Acido Ribonucleico mensajero.
- BHD: Birt-Hogg-Dubé.
- bHLH: *Basic helix-loop-helix*.
- CAIX: Anhidrasa carbónica IX.
- CAM: Molécula de adhesión celular.
- CCR: Carcinoma de células renales.
- DIABLO: *Direct IAP binding protein with low pl*.
- DMV: Densidad microvascular.
- ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*.
- EGF: Factor de crecimiento epidérmico.
- EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico.
- EPO: Eritropoyetina.
- FAK: Kinasa de adhesión focal.
- FGF: Factor de crecimiento de los fibroblastos.
- FH: Fumarato hidratasa.
- FHIT: *Fragile histidine triad*.
- FPTC-PRN: Carcinoma papilar familiar tiroideo y tumor papilar renal.
- GTP: Glutamil transpeptidasa.
- HGFR: Receptor del factor de crecimiento hepatocitario.
- 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.
- HRCA-1: *Hereditary renal cancer associated*.
- IAP: Proteínas inhibidoras de apoptosis.
- IFN: Interferón.
- IGF: Factor de crecimiento de insulina.
- IGFR: Receptor del factor de crecimiento de insulina.
- IL: Interleukina.
- ILE: Intervalo libre de enfermedad.
- IMS: Inestabilidad de microsatélites.
- iNOS: Sintasa inducible del ácido nítrico.
- KS: Escala de Karnofsky.
- LOH: Pérdida de heterocigosidad.
- MAPK: Proteína quinasa mitogén-activada.
- MDR: *Multidrug resistance gen*.
- MMP: Metaloproteasa de matriz.
- MMR: *Mismatch repair*.
- m-TOR: *Mammalian Target of Rapamycin*.
- 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 quinasa B (AKT).
- PLAU: Activador del plasminógeno de tipo uroquinasa.
- PLAUR: Receptor del activador del plasminógeno de tipo uroquinasa.
- PIGF: Factor de crecimiento placentario.
- PI3K: Fosfatidil inositol 3 fosfato quinasa.

- PTEN: Fosfatasa y homólogo de tensina deletado 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.
- TCR: Receptores de células T.
- TGF: Factor de crecimiento transformante.
- TK: Tirosin-kinasa.
- TMA: *Tissue-microarray*.
- TSC: Complejo esclerosis tuberosa.
- VEGF: Factor de crecimiento vascular del endotelio.
- VEGFR: Receptor del factor de crecimiento vascular del endotelio.
- VHL: Von Hippel Lindau.

ÍNDICE

	Pag.
I. INTRODUCCIÓN. -----	3
1. Definición -----	3
2. Epidemiología -----	4
3. Etiología -----	4
3.1. Genética molecular del CCR-----	4
3.1.1. Gen VHL -----	4
3.1.2. CCR convencional (de células claras). -----	8
3.1.3. CCR papilar -----	8
3.1.4. CCR cromófobos -----	9
3.1.5. Carcinoma de los ductos de Bellini -----	9
3.2. CCR esporádico-----	9
3.3. CCR hereditario -----	10
3.3.1. El CCR en la enfermedad de Von Hippel-Lindau (VHL; 3P25) -----	11
3.3.2. El CCR papilar familiar (CCRPF; T(3;11)(P13-P14)-----	12
3.3.3. Leiomiomatosis hereditaria y CCR (LHCCR) -----	13
3.3.4. Síndrome de Birt-Hogg-Dubé (BHD) -----	13
3.3.5. El CCR familiar asociado a translocaciones constitutivas en el cromosoma 3 (CCRF;T (3;8)(P14.2;Q 24.1) T (3;6) (P13;Q25.1) -----	14
4. Patología del carcinoma renal -----	14
4.1. Histogénesis y tipos histológicos -----	14
4.1.1. CCR convencional o de células claras-----	16
4.1.2. CCR papilar -----	18
4.1.3. CCR cromófobo-----	20
4.1.4. Carcinoma de los ductos colectores -----	21
4.1.5. Carcinoma medular -----	23
4.1.6. Carcinoma tubular mucinoso y de células fusiformes-----	24
4.1.7. Carcinoma de células renales quístico multilocular -----	25
4.1.8. Carcinoma de células renales inclasificable -----	26
4.1.9. Diferenciación sarcomatoide -----	26
4.2. Grado nuclear -----	27
5. Presentación clínica del CCR -----	29
6. Diagnóstico clínico y clasificación TNM del CCR -----	29
7. Tratamiento del CCR -----	33
8. Factores pronósticos -----	35

8.1. Factores pronósticos considerados en la clasificación TNM -----	36
8.1.1. Tamaño tumoral-----	36
8.1.2. Afectación del tejido adiposo perirrenal y peripelvico (del seno renal) --	38
8.1.3. Invasión de la glándula suprarrenal -----	38
8.1.4. Extensión del trombo venoso tumoral -----	39
8.1.5. Afectación de ganglios linfáticos -----	41
8.1.6. Presencia o ausencia de metástasis -----	42
8.2. Factores pronósticos histológicos -----	43
8.2.1. El grado nuclear -----	43
8.2.2. Subtipo histológico-----	44
8.2.3. La diferenciación sarcomatoide-----	45
8.2.4. La necrosis coagulativa tumoral -----	45
8.2.5. Invasión del sistema colector -----	46
8.2.6. Invasión microvascular -----	47
8.2.7. El infiltrado de células monocleares -----	48
8.2.8. Densidad microvascular (MVD) -----	49
8.3. Factores clínicos -----	49
8.3.1. Estado general del paciente (performance status) -----	49
8.3.2. Alteraciones analíticas relacionadas con la respuesta inflamatoria -----	51
8.3.3. Síntomas paraneoplásicos-----	52
8.3.4. Trombocitosis -----	53
8.4. Factores pronósticos moleculares-----	53
8.4.1. Anhidrasa carbónica IX -----	55
8.4.2. Factor inducible por hipoxia 1-alfa(HIF-1-alfa)-----	56
8.4.3. Factores moleculares relacionados con la angiogénesis: ligandos y receptores del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) -----	57
8.4.4. Factores moleculares relacionados con la proliferación celular:Ki67 ---	57
8.4.5. Factores moleculares relacionados con la apoptosis -----	58
8.4.5.1. p53 -----	58
8.4.5.2. MDM2-----	59
8.4.5.3. Bcl-2-----	60
8.4.5.4. Survivina -----	60
8.4.6. Reguladores del ciclo celular -----	61
8.4.6.1. PTEN (Phosphatasa and tensin homologue delate on chromosome 10) y PAKT -----	61
8.4.7. Moléculas de adhesión -----	63
8.4.8. Metaloproteinasas de la matriz (MMP) -----	63
8.4.9. Marcadores de inestabilidad genética -----	64

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.	67
1. Hipótesis	67
2. Objetivos	68
III. MATERIAL Y MÉTODO.	71
1. Muestra analizada	71
2. Parámetros clínicos	71
2.1. Estudio histopatológico	71
2.1.1. Confección de las micromatrics de tejido	76
2.2. Estudio inmunohistoquímico de la expresión protéica	77
2.2.1. Técnica inmunohistoquímica	77
2.2.2. Valoración de la expresión inmunohistoquímica	78
2.2.2.1. Ki67	78
2.2.2.2. P53	79
2.2.2.3. MDM2	80
2.2.2.4. Bcl-2	81
2.2.2.5. Survivina	82
2.3. Estudio estadístico	83
IV RESULTADOS.	89
1. Análisis descriptivo	89
1.1. Características generales de la muestra analizada	89
1.1.1. Tamaño de la muestra	89
1.1.2. Edad	89
1.1.3. Sexo	89
1.1.4. Presentación clínica	89
1.1.5. Localización del tumor	90
1.1.6. Tipo de tratamiento quirúrgico	90
1.1.7. Seguimiento	90
1.2. Parámetros anatomopatológicos	90
1.2.1. Tipo histológico	90
1.2.2. Grado nuclear de Fuhrman	91
1.2.3. Estadio tumoral	92
1.2.4. Estadio ganglionar (pN)	93
1.2.5. Necrosis histológica	93
1.2.6. Infiltrado inflamatorio de células mononucleares	94
1.3. Parámetros inmunohistoquímicos	95
1.3.1. Inmunoexpresión de Ki67	95
1.3.2. Inmunoexpresión de p53	95
1.3.3. Inmunoexpresión de MDM-2	96
1.3.4. Inmunoexpresión de Bcl-2	96

1.3.5. Inmunoexpresión de Survivina -----	97
2. Estadística analítica-----	98
2.1. Supervivencia de la serie -----	98
2.1.1. Supervivencia según las variables clínico-patológicas-----	99
2.1.1.1. Edad-----	99
2.1.1.2. Sexo -----	99
2.1.1.3. Diagnóstico sintomático o incidental-----	100
2.1.1.4. Estadio pT-----	100
2.1.1.5. Estadio pN -----	101
2.1.1.6. Tipo histológico -----	101
2.1.1.7. Grado nuclear -----	102
2.1.1.8. Necrosis coagulativa tumoral -----	103
2.1.1.9. Infiltrado inflamatorio de células mononucleares-----	105
2.2. Supervivencia según las variables inmunohistoquímicas -----	107
2.2.1. Ki67 -----	107
2.2.2. p53 -----	108
2.2.3. MDM-2 -----	108
2.2.4. Bcl-2-----	108
2.2.5. Survivina -----	109
2.3. Supervivencia libre de enfermedad -----	110
2.3.1. Recidiva tumoral según las variables clinicopatológicas -----	111
2.3.1.1. Recidiva tumoral y edad-----	111
2.3.1.2. Recidiva tumoral y sexo -----	111
2.3.1.3. Recidiva tumoral y presentación clínica -----	112
2.3.1.4. Recidiva tumoral y estadio pT-----	112
2.3.1.5. Recidiva tumoral y estadio pN -----	113
2.3.1.6. Recidiva tumoral y tipo histológico -----	114
2.3.1.7. Recidiva tumoral y grado nuclear-----	114
2.3.1.8. Recidiva tumoral y necrosis coagulativa tumoral -----	115
2.3.1.9. Recidiva tumoral e infiltrado inflamatorio de células mononucleares -----	118
2.3.2. Recidiva tumoral según las variables inmunohistoquímicas -----	119
2.3.2.1. Ki67 -----	119
2.3.2.2. P53 -----	120
2.3.2.3. MDM-2 -----	121
2.3.2.4. Bcl-2-----	121
2.3.2.5. Survivina -----	122
2.3.3. Análisis estratificado de las variables-----	124
2.3.3.1. Ki67 -----	124
2.3.4. Análisis multivariable -----	125

2.3.4.1. Análisis multivariable para el estudio de supervivencia en pacientes con carcinoma de células renales -----	125
2.3.4.2. Análisis multivariable para el intervalo libre de enfermedad en los pacientes con carcinoma de células renales -----	128
2.3.4.3. Análisis multivariable para el estudio de supervivencia en pacientes con carcinoma de células renales de células claras -----	129
2.3.4.4. Análisis multivariable para el intervalo libre de enfermedad en los pacientes con carcinoma de células renales de células claras -	131
IV. DISCUSIÓN. -----	137
V. CONCLUSIONES. -----	159
VI. BIBLIOGRAFÍA. -----	163

ÍNDICE DE FIGURAS.

	Pag.
Figura 1. Localización del gen VHL. El gen VHL está situado en la región 3p25-p26, cerca del final del brazo corto del cromosoma 3. -----	5
Figura 2. Mecanismo de inducción de la proteína HIF y activación de genes diana en condiciones de normoxia e hipoxia. -----	7
Figura 3. CCR de células claras (HE, 40x). -----	17
Figura 4. CCR papilar tipo 1 (HE, 20x).-----	19
Figura 5. CCR papilar tipo 2 (HE, 20x). -----	19
Figura 6. CCR cromóforo (HE, 20x). -----	21
Figura 7. Carcinoma de ductos colectores de Bellini (HE, 10x). -----	23
Figura 8. CCR Quístico multilocular (HE, 20x). -----	26
Figura 9. Grado Nuclear según la Clasificación de Fuhrman (HE, 40x).-----	28
Figura 10. Carcinoma de células renales. Aspecto macroscópico. -----	36
Figura 11. Infiltración trombótica de la vena renal (HE, 4x). -----	40
Figura 12. Necrosis coagulativa tumoral en el CCR (HE, 20x). -----	46
Figura 13. Infiltrado inflamatorio de células mononucleares en el CCR (HE, 40x). -----	48
Figura 14. Densidad microvascular alta (a) y baja (b) (CD31, 10x). -----	49
Figura 15. Regulación de la transición de la fase G1 a S en el ciclo celular. En la fase G1 del ciclo celular, el promotor de fase S, E2F1, se encuentra unido a la forma hipofosforilada de la proteína retinoblastoma (Rb). Con el progreso de la fase G1, Rb es fosforilada por complejos proteicos formados por ciclinas y kinasas dependientes de ciclinas (C + KDC), generando el estado hiperfosforilado de Rb (Rb con cuatro grupos fosfato). La hiperfosforilación de Rb permite la liberación de E2F1 desde el complejo formado con Rb, el cual promueve la transactivación de genes que participan en la fase S del ciclo celular. La proteína p53 induce la expresión de las proteínas mdm2 y p21. La proteína p21 inhibe (H) la fosforilación de Rb dependiente de C + KDC. Por otro lado, mdm2 mantiene bajos los niveles de p53, inhibiendo su efecto antiproliferativo. P indica fosforilación.-----	59
Figura 16. Necrosis coagulativa tumoral (HE,10x).-----	74
Figura 17. Necrosis coagulativa tumoral (HE, 20x). -----	74
Figura 18. Extensión del infiltrado inflamatorio de células mononucleares (HE, 40x). -----	75
Figura 19. Esquema de confección de micromatrices de tejido. -----	76
Figura 20. Tinción positiva para Ki67 (40x). -----	78

Figura 21. <i>Tinción positiva para p53 (40x).</i> -----	79
Figura 22. <i>Expresión nuclear positiva para MDM-2 (40x).</i> -----	80
Figura 23. <i>Tinción positiva para Bcl-2 (40x).</i> -----	81
Figura 24. <i>Tinción citoplasmática débil para survivina (20x).</i> -----	82
Figura 25. <i>Tinción nuclear y citoplasmática intensa para survivina (40x).</i> -----	83
Figura 26. <i>Distribución de la muestra según el grado nuclear.</i> -----	91
Figura 27. <i>Distribución de la muestra según el estadio patológico.</i> -----	92
Figura 28. <i>Distribución de la muestra según la extensión de la necrosis coagulativa tumoral.</i> -----	93
Figura 29. <i>Distribución de la muestra según el Infiltrado inflamatorio mononuclear.</i> -----	94
Figura 30. <i>Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia según presencia o ausencia de necrosis coagulativa tumoral.</i> -----	104
Figura 31. <i>Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia según la extensión de la necrosis coagulativa tumoral.</i> -----	105
Figura 32. <i>Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia según la extensión del infiltrado inflamatorio de células mononucleares.</i> -----	106
Figura 33. <i>Curvas de Kaplan-Meier para la supervivencia según la expresión de Ki67.</i> -----	107
Figura 34. <i>Curva de Kaplan-Meier para supervivencia libre de enfermedad según la presencia o ausencia de necrosis coagulativa tumoral.</i> -----	116
Figura 35. <i>Curvas Kaplan-Meier para la supervivencia libre de enfermedad según la extensión de la necrosis coagulativa tumoral.</i> -----	117
Figura 36. <i>Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia libre de enfermedad según la extensión del infiltrado inflamatorio de células mononucleares.</i> -----	119
Figura 37. <i>Curva Kaplan-Meier para la supervivencia libre de enfermedad según la expresión de Ki67.</i> -----	120
Figura 38. <i>Curvas Kaplan-Meier para la supervivencia libre de enfermedad según la expresión citoplasmática de survivina.</i> -----	123
Figura 39. <i>Evolución de la incidencia y mortalidad del CCR en EEUU.</i> -----	137

ÍNDICE DE TABLAS

	Pag.
<i>Tabla 1. Histogénesis de los principales tipos histológicos del CCR.</i> -----	3
<i>Tabla 2. Síndromes hereditarios asociados con CCR.</i> -----	11
<i>Tabla 3. Clasificación UICC/AJCC 1997 de los tumores epiteliales del parénquima renal.</i>	15
<i>Tabla 4. Clasificación de los tumores epiteliales malignos renales. (OMS 2004).</i> -----	16
<i>Tabla 5. Grado nuclear. Clasificación de Fuhrman.</i> -----	27
<i>Tabla 6. Estadíaje postquirúrgico (Clasificación TNM. UICC/ AJCC 2002).</i> -----	31
<i>Tabla 7. Estadíaje postquirúrgico (Clasificación TNM. UICC/ AJCC 2009).</i> -----	32
<i>Tabla 8. Estadíos en el CCR.</i> -----	32
<i>Tabla 9. Escala ECOG.</i> -----	50
<i>Tabla 10. Escala de Karnofsky (KS).</i> -----	50
<i>Tabla 11. Marcadores estudiados en el CCR.</i> -----	54
<i>Tabla 12. Anticuerpos para el estudio inmunohistoquímico.</i> -----	77
<i>Tabla 13. Tipo histológico.</i> -----	90
<i>Tabla 14. Grado nuclear.</i> -----	91
<i>Tabla 15. Estadio patológico (pT).</i> -----	92
<i>Tabla 16. Estadio ganglionar (pN).</i> -----	93
<i>Tabla 17. Necrosis coagulativa tumoral.</i> -----	94
<i>Tabla 18. Infiltrado inflamatorio mononuclear.</i> -----	95
<i>Tabla 19. Inmunoexpresión de Ki67.</i> -----	95
<i>Tabla 20. Inmunoexpresión de p53.</i> -----	96
<i>Tabla 21. Inmunoexpresión de MDM-2.</i> -----	96
<i>Tabla 22. Inmunoexpresión de Bcl-2.</i> -----	97
<i>Tabla 23. Inmunoexpresión de survivina en citoplasma según la intensidad.</i> -----	97
<i>Tabla 24. Inmunoexpresión de survivina en citoplasma según la intensidad, tras reagrupación.</i> -----	98
<i>Tabla 25. Inmunoexpresión de survivina en el núcleo.</i> -----	98
<i>Tabla 26. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses.</i> -----	98
<i>Tabla 27. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la edad.</i> -----	99

<i>Tabla 28. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses según el sexo.</i> -----	99
<i>Tabla 29. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de síntomas en el momento del diagnóstico.</i> -----	100
<i>Tabla 30. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pT.</i> ----	100
<i>Tabla 31. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pT reagrupado.</i> -----	101
<i>Tabla 32. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pN.</i> ----	101
<i>Tabla 33. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el tipo histológico.</i>	102
<i>Tabla 34. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el grado nuclear.</i> -	102
<i>Tabla 35. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el grado nuclear reagrupado en “bajo grado” y “alto grado”.</i> -----	103
<i>Tabla 36. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de necrosis coagulativa tumoral.</i> -----	103
<i>Tabla 37. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de necrosis coagulativa tumoral y según su extensión.</i> -----	104
<i>Tabla.38 Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de infiltrado de células mononucleares y según su extensión.</i> -----	106
<i>Tabla 39. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de infiltrado de células mononucleares y según su extensión, reagrupado.</i> -----	106
<i>Tabla 40. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de Ki67.</i> -----	107
<i>Tabla 41. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de p53.</i>	108
<i>Tabla 42. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de MDM-2.</i> -----	108
<i>Tabla 43. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de Bcl-2.</i> ----- -----	109
<i>Tabla 44 Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión citoplasmática de Survivina.</i> -----	109

Tabla 45. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión citoplasmática de Survivina, reagrupado. -----	110
Tabla 46. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión nuclear de Survivina. -----	110
Tabla 47. Supervivencia libre de enfermedad a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la edad. -	111
Tabla 48. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses según el sexo. -----	111
Tabla 49. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la clínica en el momento del diagnóstico. -----	112
Tabla.50. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pT. -----	112
Tabla 51. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pT agrupado. -----	113
Tabla 52 Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pN. -----	113
Tabla 53. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el tipo histológico. -----	114
Tabla 54. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el grado nuclear. -----	115
Tabla 55. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el grado nuclear reagrupado en “bajo grado” y “alto grado”. -----	115
Tabla 56. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de necrosis coagulativa tumoral. -----	116
Tabla 57. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de necrosis coagulativa tumoral y según su extensión. -----	117
Tabla 58. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de infiltrado de células mononucleares y según su extensión. -----	118
Tabla 59. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de infiltrado de células mononucleares y según su extensión, reagrupado.	118
Tabla 60. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de ki67. -----	119
Tabla 61. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de p53.	120
Tabla 62. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de MDM-2. -----	121
Tabla 63. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de Bcl-2. -----	121

Tabla 64. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión citoplasmática de Survivina. -----	122
Tabla 65. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión citoplasmática de Survivina, reagrupado. -----	123
Tabla 66. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión nuclear de Survivina. -----	124
Tabla 67. Análisis estratificado para la expresión de Ki 67. -----	125
Tabla 68. Modelo multivariable de Cox para evaluar factores pronósticos independientes de supervivencia en pacientes con diagnóstico de carcinoma de células renales. -----	127
Tabla 69. Modelo multivariable de Cox para evaluar factores pronósticos independientes de supervivencia libre de enfermedad en pacientes con carcinoma de células renales. -----	129
Tabla 70. Modelo multivariable de Cox para evaluar factores pronósticos independientes de supervivencia en pacientes con diagnóstico de carcinoma de células renales de células claras. -----	131
Tabla 71. Modelo multivariable de Cox para evaluar factores pronósticos independientes de supervivencia libre de enfermedad en pacientes con carcinoma de células renales de células claras. -----	133

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN.

Las neoplasias malignas que afectan al riñón pueden ser primarias o metastásicas. A pesar de que las lesiones metastásicas superan en número a los tumores primarios, su importancia clínica es insignificante pues son descubiertas principalmente en el examen postmortem.

El carcinoma de células renales representa entre el 2% y el 3% de las neoplasias malignas del adulto y el 80-85% de todas las neoplasias primarias del riñón. Es un tumor muy agresivo y la más letal de las neoplasias urológicas malignas con una mortalidad de más del 40%^{1, 2}.

1. DEFINICIÓN.

El carcinoma de células renales (CCR) se define como un conjunto de neoplasias malignas que tienen su origen en el epitelio de los túbulos renales, cada una de las cuales se considera como una entidad con una caracterización clínica e histológica diferente¹. Este conjunto incluye subtipos histológicos distintos entre los que se encuentran los derivados de células del túbulo proximal (CCR de células claras y CCR papilar), los derivados de células de los túbulos colectores (CCR cromóforo) y, menos frecuentes, los derivados de células de los ductos colectores de Bellini (CCR de ductos colectores y CCR medular) (Tabla 1).

Tabla 1. Histogénesis de los principales tipos histológicos del CCR.

<i>TIPO HISTOLÓGICO</i>	<i>HISTOGÉNESIS</i>
CCR de células claras	Túbulo proximal
CCR papilar	Túbulo proximal
CCR cromóforo	Células intercalares de los túbulos colectores
CCR de los ductos de Bellini	Ductos colectores de Bellini
CCR medular	Ductos colectores de Bellini

2. EPIDEMIOLOGÍA.

Cada año son diagnosticados más de 200.000 nuevos casos de carcinoma renal y más de 100.000 muertes ocurren por esta causa en el mundo, con la mayor incidencia en América del Norte, Europa y Australia. En España, se diagnostican aproximadamente 2.000 casos nuevos cada año y la incidencia es de entre 4,1 y 4,5 por cada 100.000 habitantes/año³.

La incidencia del CCR ha aumentado considerablemente en los últimos décadas, en un promedio del 3% anual. Desde 1950 ha habido un incremento del 12% en la incidencia, acompañado de un incremento del 37% en la mortalidad anual. Parte de este incremento en la incidencia se debe al mayor número de tumores asintomáticos detectados como resultado de la generalización del uso de técnicas diagnósticas de imagen no invasivas en patología abdominal⁴.

La incidencia es ligeramente superior en varones en una relación 1,6:1. Con respecto a la edad, la frecuencia de aparición está incrementada entre la 4ª y la 6ª década de la vida, con un pico máximo en la sexta década. A pesar de que la incidencia es menor en África, no existen diferencias entre las razas negra y blanca en Estados Unidos¹.

El CCR es un tumor muy agresivo, considerado como la más letal de las neoplasias urológicas malignas, con una mortalidad de hasta el 40%. A pesar de que el número de tumores diagnosticados de forma incidental en estadios tempranos se ha incrementado, la mortalidad por este tumor también ha aumentado.

3. ETIOLOGÍA.

3.1. GENÉTICA MOLECULAR DEL CCR.

3.1.1. GEN VHL (Von Hippel-Lindau).

El gen responsable de la enfermedad de VHL se localiza en el brazo corto del cromosoma 3 en el locus 25 (3p25) y está formado por 3 exones con 852 nucleótidos codificadores^{5, 6} (Figura 1).



Figura 1. Localización del gen VHL. El gen VHL está situado en la región 3p25-p26, cerca del final del brazo corto del cromosoma 3.

Se han identificado múltiples mutaciones en la línea germinal de este gen que incluyen sustituciones, inserciones y deleciones de los nucleótidos que causan transcripciones de derivación de la estructura del ARNm⁶.

Se han demostrado, además, mutaciones somáticas del gen VHL en aproximadamente un 75% de los casos de carcinoma renal esporádico de células claras convencional que no se han observado en otros tipos histológicos de CCR ni en tumores sólidos de otros órganos⁷.

El ARNm del gen VHL se ha identificado tanto en los tejidos del feto como en los del adulto. En el riñón del feto humano, la proteína del gen VHL se secreta a través del mesénquima y del epitelio, pero se encuentra en sus niveles más altos en las células de los túbulos proximales en desarrollo, las células de origen de la mayor parte de los carcinomas de células renales.

La proteína codificada por el gen VHL (pVHL) consta de 213 residuos de aminoácidos y tiene un peso molecular estimado entre 24 y 30 kDa⁸. La pVHL se localiza principalmente en el citoplasma aunque ocasionalmente también se puede observar en el núcleo⁹.

La pVHL no actúa por sí misma en la célula sino que necesita unirse a otras proteínas, la elonguina B y elonguina C, para poder ejercer su función, formando un complejo proteico que a su vez se une a una cuarta proteína denominada Cul2¹⁰. La proteína Cul2 pertenece a la familia de las culinas que son las encargadas de la ubiquitinización de otras proteínas, necesaria como paso previo a la degradación de estas por el protosoma¹¹. Por último, el

complejo pVHL/elonguinaBC/Cul2 interactúa con una última proteína llamada Rbx1 que facilita el proceso de ubiquitinización¹². El complejo supresor tumoral del VHL se encarga de catalizar la reacción química de ubiquitinización del factor inducible por hipoxia alfa (HIF- α) para su posterior degradación en el proteosoma. El HIF- α se encuentra implicado en la formación de los factores de crecimiento relacionados con la angiogénesis y la proliferación celular.

La pVHL tiene dos subdominios denominados alfa y beta¹³. El subdominio alfa se une directamente a la hélice alfa de la elonguina C. La elonguina B se une a la pVHL a través de la elonguina C. El subdominio beta de la pVHL se une directamente al HIF- α . Tanto el subdominio alfa como el beta son regiones donde asientan las mutaciones que con mayor frecuencia dan lugar a la enfermedad de von Hippel-Lindau. Estas mutaciones son silenciadoras y producen una disminución de la afinidad de la pVHL por el HIF- α ¹⁴.

El HIF es el mediador clave de las reacciones celulares de adaptación a la hipoxia. Pertenece a una familia de factores de transcripción denominada PAS (per/aryl-hydrocarbon-receptor nuclear translocator (ARNT)/Sim). HIF se divide en dos subunidades, alfa y beta, responsables de la regulación de la homeostasis del oxígeno en la célula de tal manera que permiten a ésta adaptarse tanto a la presencia como a la privación de oxígeno a través de la regulación de la expresión de los distintos genes implicados en el metabolismo celular (GUT-1), angiogénesis (VEGF, PDGF), eritropoyesis (eritropoyetina), apoptosis, proliferación celular (Bcl-2, p21, p27) y otros procesos biológicos¹⁵. Bajo concentraciones de oxígeno normales (normoxia), la subunidad beta del HIF-1 se encuentra hidroxilada y su unión a la pVHL causa su degradación proteosómica. En condiciones de hipoxia (HIF- α no se hidroxila y no es reconocido por el complejo supresor tumoral del VHL) o en ausencia de pVHL funcional, HIF-alfa no se ubiquitiniza y se acumula, se estabiliza y se trasloca al interior del núcleo donde, al unirse con su homólogo HIF- β , forma un heterodímero HIF $\alpha\beta$ que actúa como factor de transcripción y activa la transcripción de genes implicados en la angiogénesis y en la proliferación celular, incluyendo el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF-beta), el factor transformador del crecimiento (TGF) y la eritropoyetina (EPO)^{15, 16, 17} (Figura 2). Estos factores de crecimiento se unen a sus respectivos receptores en la

membrana citoplásmica tanto de los vasos adyacentes favoreciendo la angiogénesis, como en la propia membrana de la célula renal con potencial para convertirse en neoplásica. Al activarse estos receptores se inicia una cascada de señalización intracelular que deriva en la activación de otros genes relacionados con la pérdida de control de la proliferación celular y la evasión de la apoptosis. Las distintas vías que sigue este proceso son básicamente tres; la vía del fosfatidil inositol-3fosfato-kinasa (PI3K), la vía del AKT-mamalian-target of rapamycin (AKT-mTOR) y la vía de Ras/Raf/MAP-kinasa^{18, 19}.

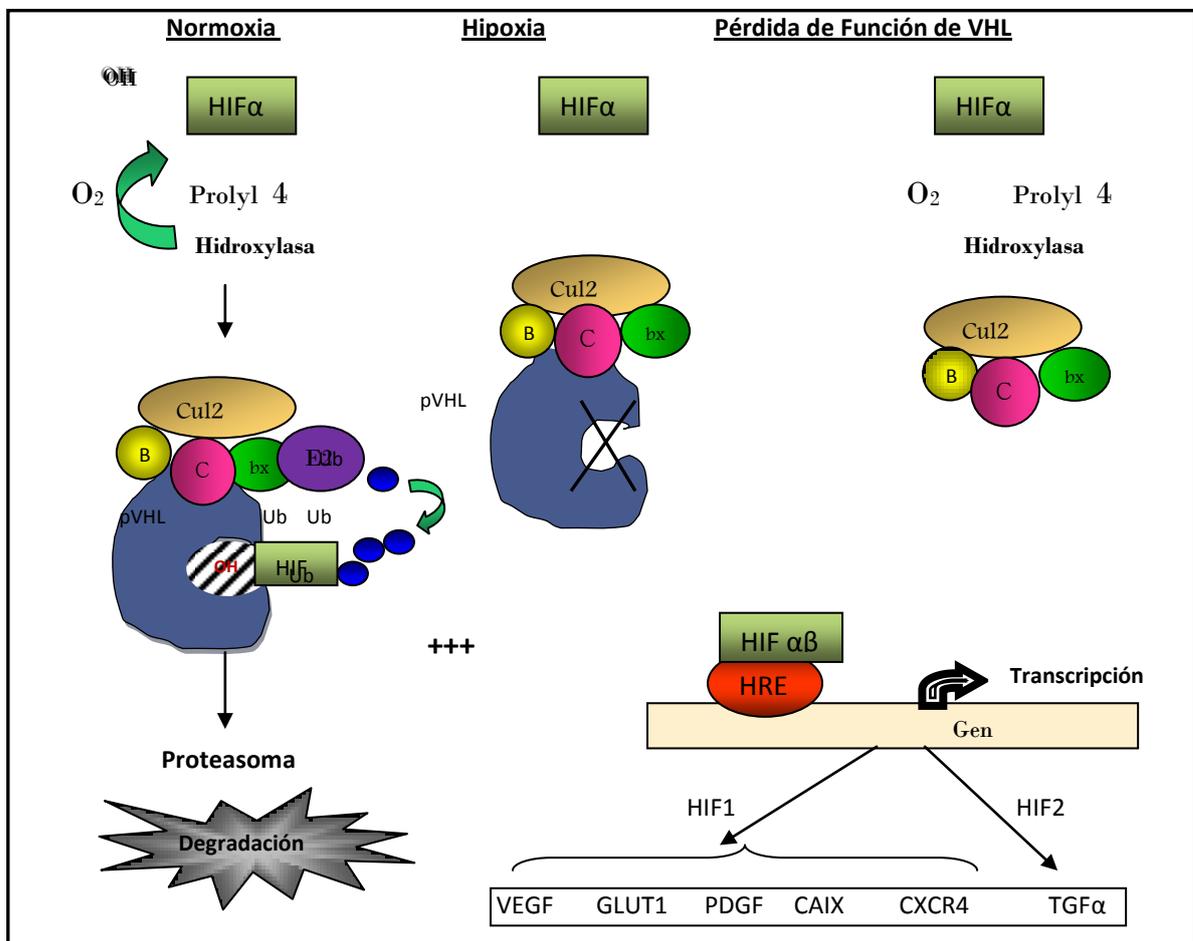


Figura 2.- Mecanismo de inducción de la proteína HIF y activación de genes diana en condiciones de normoxia e hipoxia.

3.1.2. CCR CONVENCIONAL (DE CÉLULAS CLARAS).

Las alteraciones genéticas más frecuentes en este tipo de tumores son las que afectan al **cromosoma 3** (48%). Las deleciones o traslocaciones del 3p son las más comunes. La pérdida del 3p puede ocurrir tanto en tumores esporádicos como hereditarios. La región más inestable es la 3p13.14^{20, 21, 22}. En el 3p25 se encuentra también el gen VHL y, como ya se ha mencionado, las mutaciones somáticas de este gen se encuentran hasta en el 75% de los casos de carcinoma renal esporádico^{6,7}. Recientemente se han implicado las mutaciones de la región 3p21 en la progresión de los tumores renales²². Se ha observado la presencia de la traslocación t(3; 8)(p14.2; q24.1) en algunos casos de CCR hereditario y se ha asociado a la inactivación de un posible gen supresor, el HRCA1 (hereditary renal cancer associated)²³.

Mutaciones en el **cromosoma 5** son frecuentes (20%) y características de los CCR no papilares e incluyen trisomías del 5q, reordenamientos 5q21 o la presencia de i(5p)²⁴.

El **cromosoma 14** está afectado en un 45% de los casos. En el 14q32 se encuentra el gen RAGE, un antígeno tumoral implicado en los aspectos inmunológicos del CCR²⁵.

Las deleciones del **cromosoma 8** se han observado en el CCR asociadas a otras alteraciones citogenéticas. Recientemente se ha identificado en el 8p el gen TRC8 y se ha podido establecer su relación con la presencia del CCR esporádico²⁶.

La polisomía del brazo largo del **cromosoma 7** es un hallazgo relativamente frecuente aunque insuficientemente estudiado. Las monosomías o deleciones del brazo corto del **cromosoma 9** (9p11 y 9p21), la trisomía del **cromosoma 12**, las polisomías de los **cromosomas 16 y 20** y las monosomías de los **cromosomas 1, 10, 17 y 22** son otras alteraciones citogenéticas relativamente frecuentes²⁰.

3.1.3. CCR PAPILAR.

Los cromosomas que están específicamente involucrados en las alteraciones citogenéticas, tanto en los CCR papilares como en los adenomas papilares, son los cromosomas autosómicos 7, 17 y 16 y el cromosoma sexual Y.

Las trisomías de los cromosomas 7 y 17 son muy características del CCR papilar y se relacionan con los primeros estadios de su desarrollo. En el 7q31.1-q34 se encuentra el oncogén MET cuya mutación se encuentra implicada en la génesis tumoral de algunos CCR papilares tanto esporádicos como hereditarios²⁷. Otra región frecuentemente duplicada y objeto de estudio en la actualidad es la 17q21.32²⁸.

3.1.4. CCR CROMÓFOBOS.

Los CCR cromófobos se caracterizan por la pérdida regular y múltiple de algunos de los siguientes cromosomas autosómicos: 1, 2, 6, 10, 13, 17, 21 y de los cromosomas sexuales X e Y²⁹.

3.1.5. CCR DE LOS DUCTOS DE BELLINI.

Los eventos moleculares que contribuyen al desarrollo del CCR de ductos colectores como también se denomina, son poco conocidos debido al escaso número de estos tumores que han sido analizados. Se ha detectado pérdida de heterocigosidad (LOH) en múltiples brazos cromosómicos en el CDC incluyendo 1q, 6p, 8p, 13q y 21q³⁰.

3.2. CCR ESPORÁDICO.

En este grupo se encuentran la mayoría de los CCR, e incluye aquellos tumores que no son hereditarios, ya que las alteraciones genéticas y cromosómicas que sustentan su origen y desarrollo, no se producen en la línea germinal.

Diferentes factores clínicos y ambientales se han relacionado con la etiología del carcinoma de células renales esporádico. Estos incluyen el tabaquismo, exposición a compuestos tóxicos, obesidad, enfermedad quística renal adquirida (típicamente asociada a diálisis), nefropatía por abuso de analgésicos y la predisposición genética.

- **Tabaquismo:** Fumar cigarrillos incrementa el doble la probabilidad de desarrollar carcinoma de células renales, y por lo tanto, posiblemente contribuye a su desarrollo en casi un tercio de los casos³¹.

- **Exposición ocupacional:** La exposición ocupacional a compuestos tóxicos como el cadmio, el asbesto y derivados del petróleo se ha asociado a un aumento del riesgo de padecer carcinoma de células renales^{32, 33, 34, 35}. Una excesiva exposición a estos carcinógenos también puede estar asociada a mutaciones en los genes relacionados con la patogénesis de esta neoplasia, como el gen supresor tumoral VHL.
- **Obesidad:** Existe una correlación directa entre el incremento del peso corporal y un aumento del riesgo de desarrollar cáncer renal, especialmente en mujeres. Los individuos con mayor masa corporal tienen de 2,5 a 6 veces más posibilidades de padecer CCR que los individuos no obesos³⁶.
- **Nefropatía por abuso de analgésicos:** La ingestión prolongada de combinaciones de analgésicos, particularmente los compuestos que contienen fenacetina y aspirina puede provocar un fallo renal crónico. La fenacetina es un carcinógeno urotelial conocido y parece que tiene también una asociación causal con el carcinoma de células renales³⁷.
- **Enfermedad quística renal adquirida:** Se ha estimado que el riesgo de padecer carcinoma de células renales es 30 veces mayor en pacientes en diálisis con enfermedad quística renal adquirida respecto a la población general. Esta complicación se desarrolla en un 30-50% de los pacientes en diálisis crónica, de los cuales un 6% acaba desarrollando un carcinoma de células renales. Suelen ser tumores limitados al riñón, múltiples y bilaterales en aproximadamente la mitad de los casos, debido a la naturaleza difusa de la enfermedad subyacente. La aparición de estas neoplasias ocurre generalmente tras un periodo de entre 8-10 años de diálisis. El riesgo es mayor en hombres y en pacientes con quistes de gran tamaño^{38,39}

3.3. CCR HEREDITARIO.

El CCR hereditario es aquel que se desarrolla en el contexto de síndromes hereditarios y se asocia a mutaciones en la línea germinal que afectan a oncogenes o genes supresores

tumorales, cuya identificación hace posible la confirmación del diagnóstico clínico del síndrome y la identificación de portadores asintomáticos de gen mutado.

El CCR hereditario es mucho menos frecuente que el esporádico. Se han descrito hasta diez síndromes hereditarios asociados al CCR que se muestran en la tabla y entre los que destacan cuatro tipos definidos: el CCR de la enfermedad de Von-Hippel-Lindau, el CCR papilar familiar, el CCR familiar, el síndrome de Birt-Hogg-Dubé. En las cuatro variedades la herencia es de carácter autosómico dominante.

Cada uno de los distintos síndromes hereditarios predispone a distintos tipos de CCR. En general, los CCR hereditarios tienen una presentación en edades más tempranas, suelen ser multifocales y bilaterales y de menor tamaño. El más frecuente es el CCR de la enfermedad de VHL (Tabla 2).

Tabla 2. Síndromes hereditarios asociados con CCR.

ENFERMEDAD	TIPO DE CCR	ALTERACIÓN GENÉTICA
Síndrome de von Hippel-Lindau	CCR de células claras bilaterales y múltiples	VHL (3p25-26)
Translocaciones del cromosoma 3	CCR de células claras bilaterales y múltiples	Desconocido, probable implicación del VHL
CCR de células claras familiar	CCR de células claras solitarios y unilaterales	Desconocido
Paraganglioma hereditario	CCR de células claras	SDHB (1p36)
Tuberculosis esclerosa	CCR de células claras y angiomiolipomas	TSC1 (9q34) TSC2 (16p13)
CCR papilar hereditario	CCR papilar bilateral y múltiple	MET (7q31)
Síndrome de Reed o de leiomiomatosis uterina	CCR papilar solitario y unilateral	FH (1q43-43)
Síndrome hiperparatiroideo	CCR papilar, hamartomas renales y tumor de Wilms	HRPT (1q25-32)
Cáncer de tiroides familiar papilar	CCR papilar y oncocitomas	Desconocido
Síndrome de Birt-Hogg-Dube	CCR de células claras, CCR papilar, CCR cromóforo, oncocitomas	DHD (17p11)

3.3.1. EL CCR EN LA ENFERMEDAD DE VON HIPPEL-LINDAU (VHL;3P25).

Este síndrome es causado por mutaciones en la línea germinal del gen supresor tumoral VHL.

Como ya se ha comentado, la proteína VHL se encuentra involucrada en la inhibición de la elongación transcripcional, en la degradación de proteínas, en la regulación de ciclo celular y en la angiogénesis.

El gen VHL se expresa en una variedad de tejidos humanos, en particular, en las células epiteliales de la piel, y en el tracto gastrointestinal, respiratorio y urogenital, así como en órganos endocrinos y exocrinos⁴⁰. En el sistema nervioso central, la inmunorreactividad para la proteína VHL es prominente en las neuronas, incluso en las células de Purkinje del cerebelo⁴¹.

La prevalencia de la enfermedad de VHL es de aproximadamente 1 por cada 100.000 individuos. Se transmite según un patrón de herencia autosómico dominante y se caracteriza por el desarrollo de hemangioblastomas capilares en el sistema nervioso central y retina, feocromocitomas suprarrenales, tumores pancreáticos, tumores del oído interno^{42, 43}. Las manifestaciones renales típicas de este síndrome son quistes renales y CCR de células claras. Se estima entre el 40-60% la incidencia de quistes renales, en un 15% de los adenomas y en casi un 50% de CCR. Las lesiones son generalmente multifocales y bilaterales. La edad media de inicio de las manifestaciones es de 37 años y la esperanza de vida media es de 49 años. Hasta un 35% de los pacientes con enfermedad de VHL que desarrollan CCR de células claras metastatizan y esto supone la segunda causa de muerte después de las enfermedades del SNC⁴⁴.

3.3.2. EL CCR PAPILAR FAMILIAR (CCRPF; T(3; 11) (P13-P14)).

El origen de esta enfermedad está en mutaciones activadoras del oncogén MET, en el cromosoma 3p31. MET codifica un receptor tirosin-kinasa cuyo ligando es el factor de crecimiento hepatocitario (HGFR)⁴⁵. Además, la duplicación del cromosoma 7 mutante está presente en la mayoría de estos tumores, dando lugar a una trisomía 7⁴⁵.

Es un síndrome tumoral hereditario de patrón autosómico dominante, caracterizado por el desarrollo tardío de tumores papilares de células renales múltiples y bilaterales. Aproximadamente un 50% de los miembros de las familias afectadas desarrollan la enfermedad a partir de los 55 años de edad⁴⁶.

3.3.3. LEIOMIOMATOSIS HEREDITARIA Y CCR (LHCCR).

Es un síndrome tumoral autosómico dominante causado por mutaciones en la línea germinal en el gen FH (Fumarate hydratase). Se caracteriza por una predisposición a desarrollar leiomiomas cutáneos y uterinos. En un subgrupo de familias existe, además, una predisposición a padecer CCR y leiomiosarcomas uterinos⁴⁷.

Los tumores renales son típicamente solitarios y unilaterales. La edad de aparición de los mismos es mucho más precoz que en CCR esporádico, con una edad media de aparición entre 35 y 44 años^{47, 48}. Típicamente los CCR de este síndrome son papilares de tipo 2 constituidos por células grandes con citoplasma eosinófilo abundante y núcleo grande con nucléolo prominente. El grado nuclear de Fuhrman suele ser 3 ó 4 y la mayoría muestran inmunotinción con citoqueratina 7 y vimentina⁴⁷.

La mayoría de los pacientes mueren por enfermedad metastásica en un periodo de 5 años después del diagnóstico⁴⁸.

3.3.4. SÍNDROME DE BIRT-HOGG-DUBÉ (BHD).

El síndrome BHD es una enfermedad autosómica dominante con penetrancia incompleta. El gen BHD se localiza en el cromosoma 17p11.2 y codifica una proteína novel llamada foliculina cuya función es desconocida en la actualidad⁴⁹.

Se caracteriza por la presencia de múltiples tumores cutáneos benignos, específicamente, fibrofoliculomas, tricodiscomas y acrocordones. En estos pacientes también es frecuente el desarrollo de múltiples tumores renales y neumotórax espontáneo⁵⁰.

La patología renal es muy variada en este síndrome. Los tumores en el riñón pueden ser múltiples y bilaterales. Pueden desarrollar tumores benignos como el oncocitoma o malignos como el CCR de células claras papilar o cromóforo con una población mixta de células claras y eosinófilas. La edad de aparición de las manifestaciones clínicas suele ser a los 50 años aproximadamente y el número medio de tumores presentes es 5 por paciente. La enfermedad metastásica es rara y sólo suele aparecer si el diámetro del tumor es mayor de 3 cm⁵⁰.

3.3.5. EL CCR FAMILIAR ASOCIADO A TRANSLOCACIONES CONSTITUTIVAS EN EL CROMOSOMA 3 (CCRF; T(3; 8) (P14.2; Q24.1) T(3; 6)(P13; Q25.1)).

Es un síndrome tumoral hereditario causado por la existencia de localizaciones constitutivas en el cromosoma 3 con diferentes puntos de rotura y se caracteriza por un elevado riesgo de desarrollar CCR. El modo de herencia es autosómico dominante. Los tumores renales desarrollados en este síndrome son típicamente CCR de células claras.

El criterio diagnóstico es la presencia de uno o múltiples CCR, unilaterales o bilaterales, en un miembro de una familia con una translocación constitucional en el cromosoma 3. La asociación de CCR con una translocación en el cromosoma 3 no es, por si sola, un criterio diagnóstico, ya que esta alteración genética también puede ocurrir en el CCR esporádico^{51,52, 53, 54, 55, 56}.

4. PATOLOGÍA DEL CARCINOMA RENAL.

4.1. HISTOGÉNESIS Y TIPOS HISTOLÓGICOS.

Al carcinoma renal primario se le ha denominado de distintas formas a lo largo de la historia: hipernefroma, tumor de Grawitz, adenocarcinoma renal o carcinoma de células renales.

El primero en hacer una interpretación histogenética del CCR fue Grawitz en 1883, quien consideró que se originaba de restos de cortical adrenal en la corteza renal, sin embargo no quedó establecido su origen en el epitelio tubular renal hasta que, en 1960, Oberling lo demostró con microscopía electrónica⁵⁷. A partir de ese momento se consideró que todas las neoplasias renales procedían de un mismo origen en el túbulo renal y las clasificaciones internacionales unificaron todos los subtipos histológicos bajo la común denominación de adenocarcinoma renal, que podía ser de células claras o granulares, de arquitectura tubular, papilar o quística, y raramente de aspecto sarcomatoide⁵⁸

A partir de la década de los 90, la clasificación de los distintos tipos histológicos se ha visto sometida a frecuentes revisiones.

Basándose en los avances en el conocimiento de la biología molecular y en una mejor valoración histológica y de las características ultraestructurales, Kovacs⁵⁹ diseñó una nueva clasificación en 1993 que fue redefinida en la reunión de Heidelberg en octubre de 1996⁶⁰ en la que se propusieron los subtipos reflejados en la tabla 3.

Tabla 3. Clasificación UICC/AJCC 1997 de los tumores epiteliales del parénquima renal.

Tumores malignos
CCR Convencional o de células claras CCR Papilar CCR Cromóforo CCR de los ductos colectores o tumor de Bellini (que incluye el carcinoma medular) CCR no clasificable
Tumores benignos
Adenoma papilar Oncocitoma Adenoma metanéfrico Adenofibroma metanéfrico

Esta clasificación fue aprobada también por la UICC (Union Internationale Contre le Cancer) y la AJCC (American Joint Committee on Cancer) por el grupo de trabajo liderado por Störkel en 1997⁶¹.

Los actuales conocimientos citogenéticos han permitido entender que las distintas variantes histológicas se corresponden con distintas alteraciones cromosómicas y los estudios clinicopatológicos revelan distintos comportamientos biológicos para cada una de estas variantes. Con estas consideraciones la OMS estableció la última clasificación de los tumores renales del 2004⁶² en la que se consideran los distintos tipos histológicos de CCR reflejados en la tabla 4.

Tabla 4. Clasificación de los tumores epiteliales malignos renales. (OMS 2004).

<i>Clasificación histológica del CCRs (OMS)</i>	
<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

A continuación se comentan las características más relevantes de los tipos histológicos más comunes de CCR, por orden de frecuencia en su presentación.

4.1.1. CCR CONVENCIONAL O DE CÉLULAS CLARAS.

El CCR de células claras se define como una neoplasia maligna compuesta por células con citoplasma claro o eosinofílico entre una delicada red vascular y que se origina en las células de los túbulos renales proximales⁶².

- **Características macroscópicas.** Generalmente son unilaterales y solitarios, con morfología esférica y consistencia blanda. El tamaño es muy variable y en ocasiones considerable, de hasta 25 cm o más de diámetro.

La superficie al corte suele ser de color amarillo o anaranjado y son frecuentes los focos de hemorragia reciente o antigua y las áreas grisáceas de aspecto cicatricial. Frecuentemente presenta es frecuente hallar áreas de necrosis, sobre todo en los tumores de gran tamaño, en ocasiones de aspecto quístico o gelatinoso.

La delimitación con el parénquima renal sano suele ser nítida, con bordes lobulados y de aspecto encapsulado en algunas zonas. En un 15% de los casos existen múltiples nódulos tumorales dispersos, satélites del tumor principal. El CCR tiene una gran tendencia a invadir la vena renal y en ocasiones crece en su luz formando una masa que se extiende a la vena cava inferior y puede alcanzar las cavidades cardíacas derechas.

- **Características histológicas.** La apariencia histológica es variable. Las células tumorales suelen ser grandes con citoplasma que varía desde claro a granular, con formas intermedias. Las células claras predominan en el 45-70% de los tumores y las células granulares en el 25%. El resto de los casos suelen ser mixtos, con un número semejante de ambos tipos de celulares. Las células claras tienen un citoplasma vacuolado, sin gránulos, rico en lípidos y/o glucógeno con pocas organelas. Las células granulares no contienen lípidos ni glucógeno. Sus citoplasmas son ricos en mitocondrias y otras organelas que les confieren un color eosinófilo, rosado, en las tinciones con HE⁶² (Figura 3).

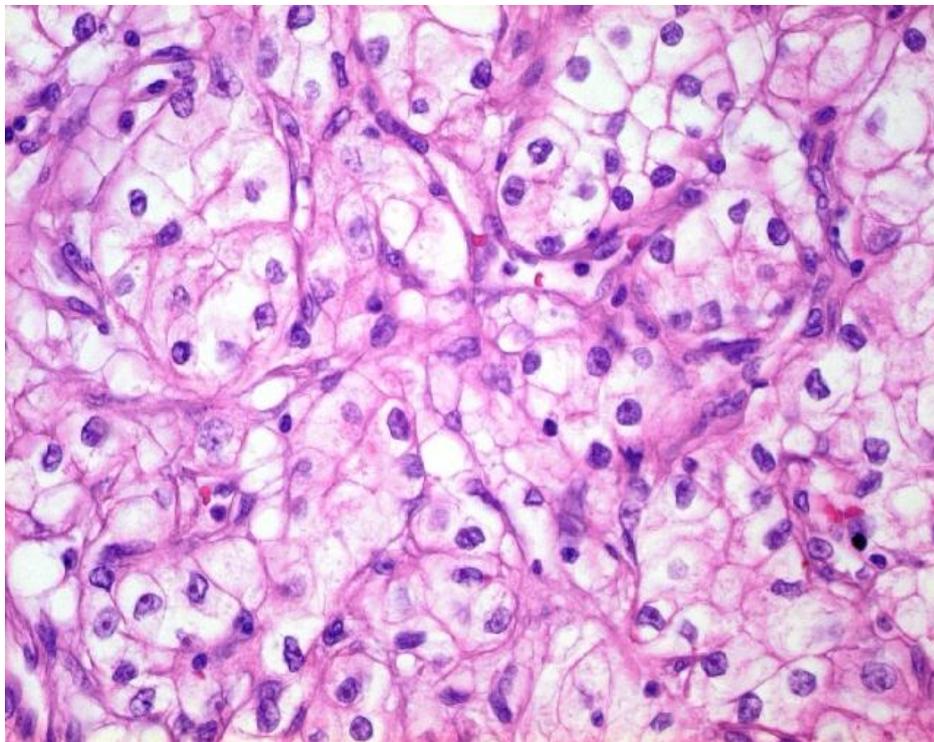


Figura 3. CCR de células claras (HE, 40x).

Ambos tipos de células son poligonales, con pocas variaciones de tamaño. Los núcleos generalmente son de localización central, con escaso pleomorfismo y las mitosis son raras. El estroma suele ser mínimo y contiene una fina red capilar. En ocasiones hay acúmulos de macrófagos cargados de grasa y hemosiderina en las áreas de hemorragia antigua. En los tumores de gran tamaño es frecuente identificar áreas de necrosis⁶².

Arquitecturalmente, pueden presentar patrones diversos, siendo el sólido, acinar y alveolar los más frecuentes. En un mismo tumor, al realizar múltiples secciones, es

frecuente hallar diferentes patrones. Tanto las estructuras alveolares como las acinares se pueden dilatar dando lugar a los patrones microquístico y macroquístico⁶².

- **Inmunoperfíl.** El CCR de células claras típicamente muestra positividad con Vimentina, EMA, marcador del CCR (RCC Ma) y CD10. La mayoría son positivos con citoqueratinas de bajo peso molecular, CK8, CK18, CK9, CK19, AE1/AE3 y Cam5.2^{63, 64, 65,66}.

4.1.2. CCR PAPILAR.

Se define como un tumor maligno del parénquima renal con arquitectura papilar o tubulopapilar, derivado de las células de los túbulos proximales. Es el segundo en frecuencia entre los subtipos histológicos de CCR y supone un 10-15%⁶⁷.

- **Características macroscópicas.** La presencia de tumores bilaterales y multifocales es más frecuente en el CCR papilar que en los otros subtipos. Frecuentemente contienen áreas de hemorragia, necrosis y degeneración quística y en los tumores bien delimitados se suele identificar una pseudocápsula⁶⁷.
- **Características histológicas.** La característica fundamental de este tipo de tumores es su arquitectura papilar o tubulopapilar, formada por ejes centrales conectivo-vasculares rodeados por células epiteliales neoplásicas. Estas células tienen un citoplasma granular eosinófilo o basófilo, por lo que también se le ha denominado carcinoma cromófilo. Las papilas contienen un eje fibrovascular delicado y pueden contener agregados de macrófagos espumosos y cristales de colesterol. Las variantes sólidas del CCR papilar contienen túbulos o papilas cortas que asemejan glomérulos. Se han descrito dos tipos de CCR papilares⁶⁸.
 - **Tipo 1:** Las papilas están revestidas por pequeñas células con escaso citoplasma dispuestas en una capa simple sobre la membrana basal. Estos son más frecuentemente multifocales (Figura 4).
 - **Tipo 2:** Las células tumorales suelen tener un grado nuclear mayor, citoplasma eosinófilo y pseudoestratificación nuclear (Figura 5).

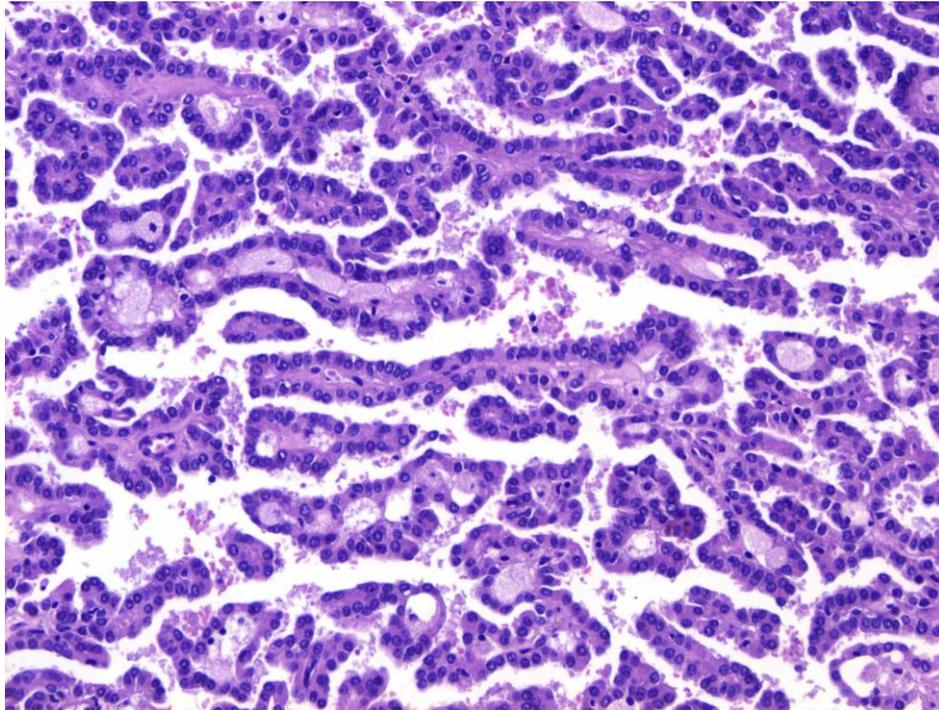


Figura 4. *CCR papilar tipo 1 (HE, 20x).*

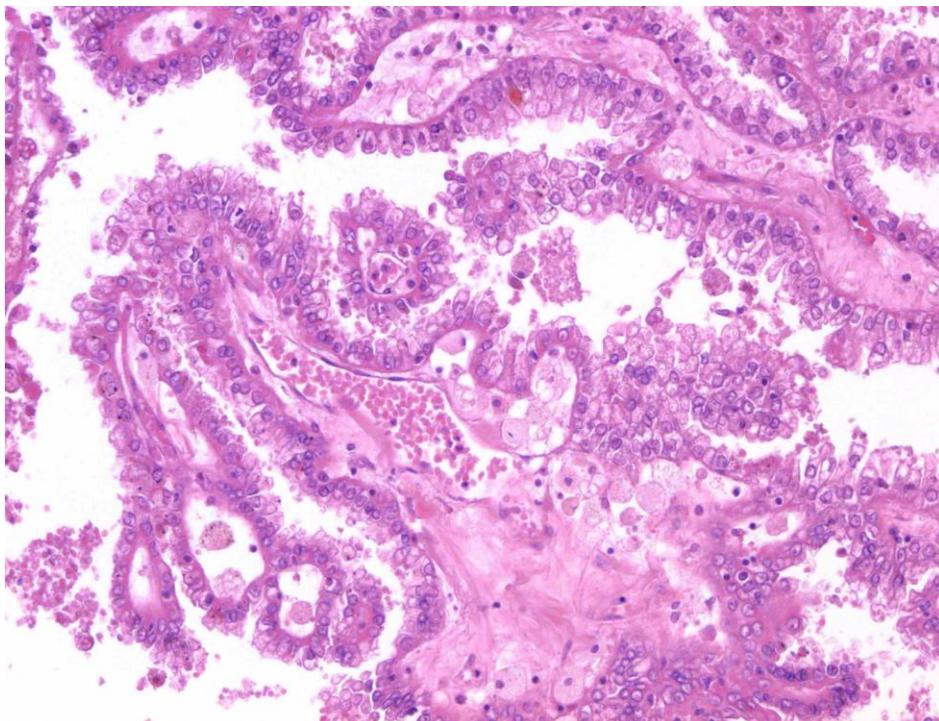


Figura 5. *CCR papilar tipo 2 (HE, 20x).*

- **Inmunoperfil.** El CCR papilar casi siempre expresa pancitoqueratina, AMARC y CD15. La mayoría expresan CD10 y RCC Ma. Además, se ha descrito la expresión de CK 7, más frecuentemente expresada en el tipo 1 (80%) que en el tipo 2 (20%). En el Tipo 2 se ha descrito más frecuentemente la expresión de E-Cadherina y CK20^{66, 69, 68}.

4.1.3. CCR CROMÓFOBO.

Se define como un carcinoma renal constituido por células poligonales grandes, pálidas y con membranas citoplasmáticas prominentes y bien definidas. Ocupa el tercer lugar en frecuencia de aparición y representa alrededor del 5% de todos los CCR⁷⁰.

- **Características macroscópicas.** Generalmente se localizan en la zona central del riñón y suelen tener un tamaño entre 2,5 y 12 cm. Típicamente tienen color blanquecino grisáceo y consistencia firme, y bordes irregulares y en ocasiones crecen como masas en la pelvis renal. A menudo muestran infiltración del tejido adiposo perirrenal y del seno renal y con frecuencia metastatizan en ganglios linfáticos regionales, pulmón, hígado, hueso y glándula suprarrenal. No suelen presentar áreas de necrosis⁷⁰.
- **Características histológicas.** Las células son poligonales grandes con citoplasma transparente y membrana citoplásmica prominente y núcleos irregulares con nucléolo pequeño. A menudo son binucleadas y son frecuentes los halos perinucleares. Es característica la tinción citoplasmática difusa de estas células con la tinción de hierro coloidal de Hale⁷¹. Estas células se encuentran generalmente entremezcladas con otras células más pequeñas con citoplasma eosinófilo y granular en la **variante clásica**⁷⁰. La **variante eosinofílica** de este subtipo histológico está constituida únicamente por células con citoplasma intensamente eosinofílico⁷² (Figura 6).

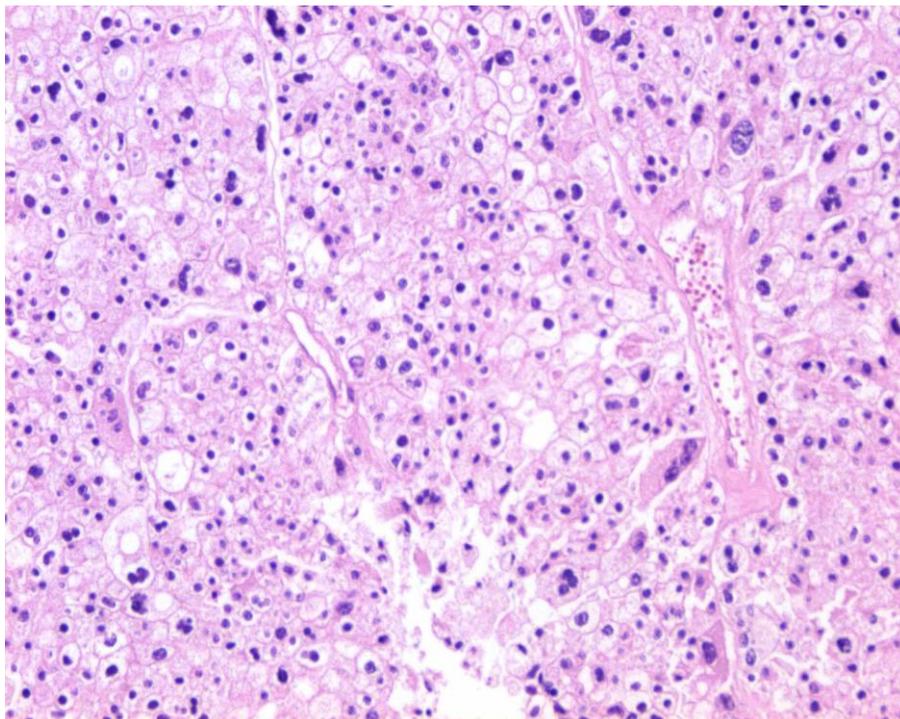


Figura 6. CCR cromófono (HE, 20x).

En general, el patrón de crecimiento es sólido, a veces glandular, con microcalcificaciones focales y septos fibrosos anchos. A diferencia del CCR de células claras, muchos de los vasos tienen paredes gruesas y excéntricamente hialinizadas. Las células perivasculares a menudo son de mayor tamaño que el resto⁷⁰.

- **Inmunoperfil.** Expresa CK7 (tinción intensa), Vimentina, EMA y CD117. No expresa inmunotinción con RCC Ma, CD10 ni CD20^{65,66,69}.

4.1.4. CARCINOMA DE LOS DUCTOS COLECTORES.

Se define como una neoplasia maligna originada en las células principales de los ductos colectores de Bellini, por lo que también se les ha denominado carcinoma de los ductos de Bellini y constituyen menos del 1% de los CCR⁷³.

- **Características macroscópicas.** Generalmente localizados en la región central del riñón, típicamente tienen bordes irregulares y color blanquecino grisáceo⁷⁴. Pueden presentar áreas de necrosis y nódulos satélites. Generalmente muestran infiltración del tejido adiposo perirrenal y del seno renal y metástasis en ganglios

linfáticos regionales, pulmones, hígado y glándula suprarrenal en el momento del diagnóstico⁷³.

- **Características histológicas.** El patrón de crecimiento más típico es tubular o tubulopapilar, con glándulas infiltrativas de contornos angulados asociadas a una reacción desmoplásica del estroma. Los límites del tumor son mal definidos. Pueden formar proyecciones papilares o presentar cambio microquístico focal, así como áreas sólidas, cordonales o sarcomatoides. Las células tienen citoplasma finamente granular eosinófilo y núcleos atípicos con nucléolos prominentes, generalmente grado 3 ó 4 de Fuhrman y pueden formar estructuras glandulares y con disposición de las células en tachuela. La presencia de mucina se puede demostrar mediante las tinciones de azul alcian o PAS dentro del citoplasma, en los bordes luminales o extracelular. Se suele asociar a displasia epitelial tubular en el parénquima renal adyacente^{73,74}.

Se asocia a un mal pronóstico y casi dos tercios de los pacientes mueren a causa del tumor a los dos años del diagnóstico⁷⁴.

- **Inmunoperfil.** Típicamente muestra inmunotinción positiva con aglutinina de lecitina del cacahuete, aglutinina 1 de *Ulex europaeus* (UEA-1), queratina de bajo peso molecular y pancitoqueratina. Frecuentemente expresa también citoqueratinas de alto peso molecular (34βE12) y CK19. Muestra una variable inmunotinción con vimentina, CD15 y EMA y no expresa CD10^{73,74} (Figura 7).

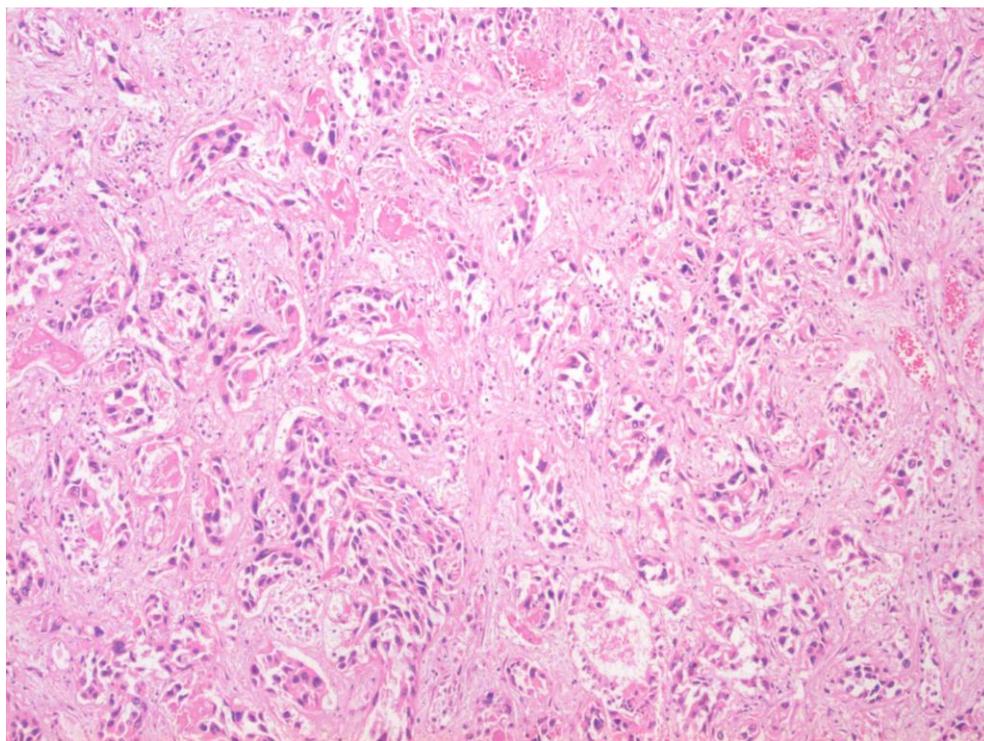


Figura 7. *Carcinoma de ductos colectores de Bellini (HE, 10x).*

4.1.5. CARCINOMA MEDULAR.

Se define como un tumor de rápido crecimiento localizado en la médula renal y asociado casi exclusivamente a anemia de células falciformes. Es un tumor raro y se considera una variante del subtipo anterior. Con raras excepciones se describe en gente joven, entre 20 y 40 años, la mayoría enfermos o portadores de anemia de células falciformes, con mayor afectación del sexo masculino^{75, 76}.

Las características histológicas e inmunohistoquímicas son superponibles a las del carcinoma de ductos colectores y se considera una variante muy agresiva de este subtipo.

- **Características macroscópicas.** Macroscópicamente, son tumores poco circunscritos que se originan en la zona central del riñón. Pueden tener un tamaño entre 4 y 12 cm con una media de 7 cm. La mayoría muestran amplias áreas de hemorragia y necrosis. Son tumores poco diferenciados constituidos por sábanas de células. Sus características más comunes son un patrón de crecimiento reticular y las áreas compactas de morfología adenoide quística. Las células tienen citoplasmas eosinófilos y núcleos claros con nucléolo prominente. La mayoría de

los casos muestran mucina citoplasmática. Pueden presentar características rabdoideas o escamosas. Se observan frecuentemente neutrófilos entremezclados con el tumor y un infiltrado linfocitario en los márgenes del tumor. El estroma es edematoso colágeno y a menudo constituye gran parte de la masa tumoral. El pronóstico es muy malo con una esperanza de vida media de 15 semanas tras la cirugía⁷⁷.

- **Inmunoperfil.** El CCR medular expresa casi siempre queratina AE1/AE3 y EMA, aunque con menor intensidad. CEA es generalmente positivo. Se ha descrito una fuerte expresión de citoqueratina de bajo peso molecular (Cam5.2) y negatividad para citoqueratina de alto peso molecular (34βE12)⁷⁸.

4.1.6. CARCINOMA TUBULAR MUCINOSO Y DE CÉLULAS FUSIFORMES.

Este subtipo se caracteriza por ser una neoplasia renal epitelial de bajo grado y polimorfa con dos patrones, tubular mucinoso y de células fusiformes⁷⁹. El rango de edades entre los que se suele presentar es amplio, entre 17 y 82 años (media de 53 años) y es más frecuente en el sexo femenino, con una proporción 4:1⁸⁰. Tienen un pronóstico favorable⁸¹.

- **Características macroscópicas.** Suelen ser tumores bien circunscritos con una superficie de corte pardo-grisácea y uniforme⁷⁹.
- **Características histológicas.** Están compuestos por estructuras tubulares alongadas muy agrupadas entre un estroma mucinoso pálido. Las células son pequeñas cuboidales u ovoides, con características nucleares de bajo grado. Las células de las estructuras tubulares dispuestas en paralelo a menudo presentan una apariencia fusocelular que simula un sarcoma o leiomioma. Ocasionalmente pueden presentar áreas de necrosis, e inflamación crónica⁷⁹.
- **Inmunoperfil.** Estos tumores muestran tinción positiva con una amplia variedad de citoqueratinas, incluyendo queratinas de bajo peso molecular, CK7, CK18, CK19 y 34βE12. También expresan generalmente EMA y ocasionalmente vimentina y CD15. Muestran una extensa inmunotinción positiva con *Ulex europaeus* y con aglutininas de soja y de cacahuete. No expresan CD10 ni otros marcadores de la nefrona proximal⁸².

4.1.7. CARCINOMA DE CÉLULAS RENALES QUÍSTICO MULTILOCULAR.

Se define como un tumor compuesto enteramente por quistes cuyos septos contienen pequeños grupos de células claras indistinguibles de las del carcinoma de células claras grado 1 de Fuhrman ⁸³.

Es más frecuente en el sexo masculino y se presenta en un rango de edades entre 20 y 76 años con una edad media de presentación a los 51 años. Tiene un pronóstico muy bueno y no hay por el momento evidencias de recurrencia ni de metástasis en estos tumores ⁸⁴.

- **Características macroscópicas.** Se presenta como una masa bien delimitada y separada del parénquima renal normal por una cápsula fibrosa y constituida por pequeños y grandes quistes con contenido seroso o hemorrágico. El tamaño puede variar entre 2,5 y 13 cm ⁸⁵.
- **Características histológicas.** Los quistes están delimitados por septos fibrosos con una sola capa de células epiteliales que pueden ser planas o poligonales, con citoplasmas claros y núcleos pequeños y redondos de bajo grado. Ocasionalmente se pueden ver pequeños acúmulos de estas células en el espesor de los septos que pueden simular acúmulos de histiocitos. Una característica importante que lo diferencia del carcinoma de células renales células claras grado 1 es la ausencia de nódulos expansivos de células tumorales⁸⁴ (Figura 8).
- **Inmunoperfil.** Las células claras de estos tumores muestran tinción positiva con anticuerpos frente a citoqueratinas y EMA, lo que ayuda a diferenciarlas de los histiocitos. Por lo demás su perfil inmunohistoquímico es similar al del subtipo histológico de células claras ⁸³.

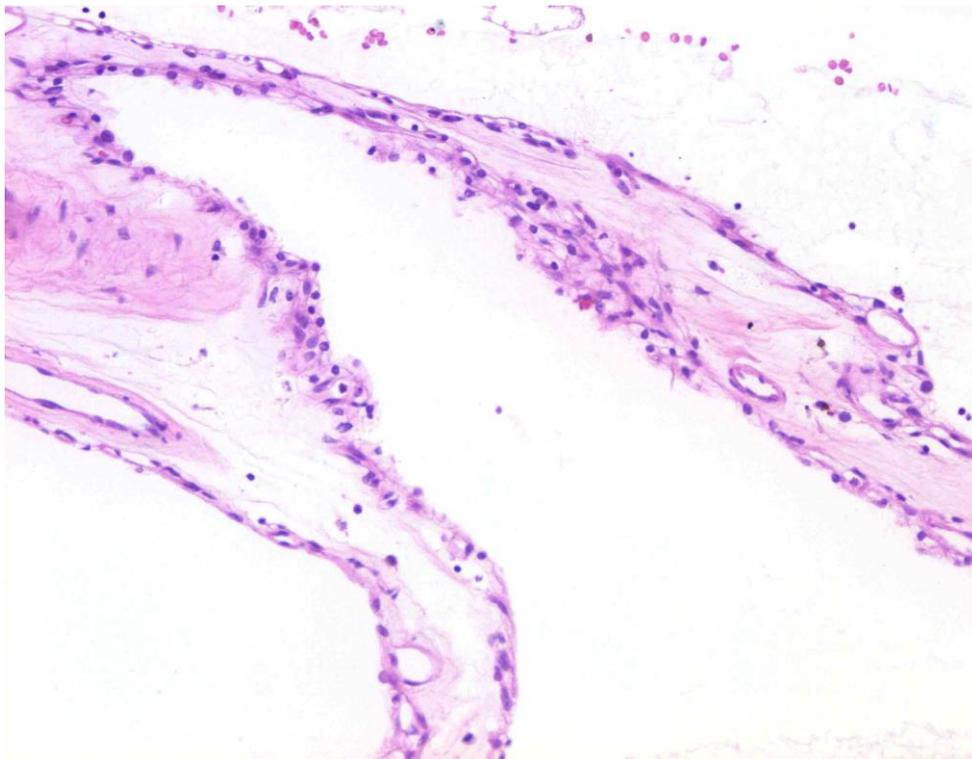


Figura 8. CCR Quístico multilocular (HE, 20x).

4.1.8. CARCINOMA DE CÉLULAS RENALES INCLASIFICABLE.

Esta categoría se reserva para los tumores que no se pueden clasificar en ninguna de los subtipos previamente descritos, bien por su extensa diferenciación sarcomatoide o bien porque su patrón arquitectural no responde a las características de los otros subtipos. También se incluyen en este apartado los tumores productores de mucina, los que tienen mezcla de elementos estromales y epiteliales y los de tipos celulares irreconocibles⁸⁶.

4.1.9. DIFERENCIACIÓN SARCOMATOIDE.

La diferenciación sarcomatoide no es un subtipo de CCR propiamente dicho, sino que es una denominación para aquellos tumores que se suponen de un origen determinado y que han sufrido una transformación parcial hacia un tipo histológico menos diferenciado y fusocelular, no siendo primitivamente sarcomatosos. Esta característica se objetiva en 1-4% de los CCR, más frecuentemente en el subtipo de células claras. Son tumores con un grado alto de atipia nuclear, con importante presencia de necrosis tumoral y con mayor frecuencia de infiltración vascular, lo que en conjunto les confiere muy mal pronóstico⁸⁷.

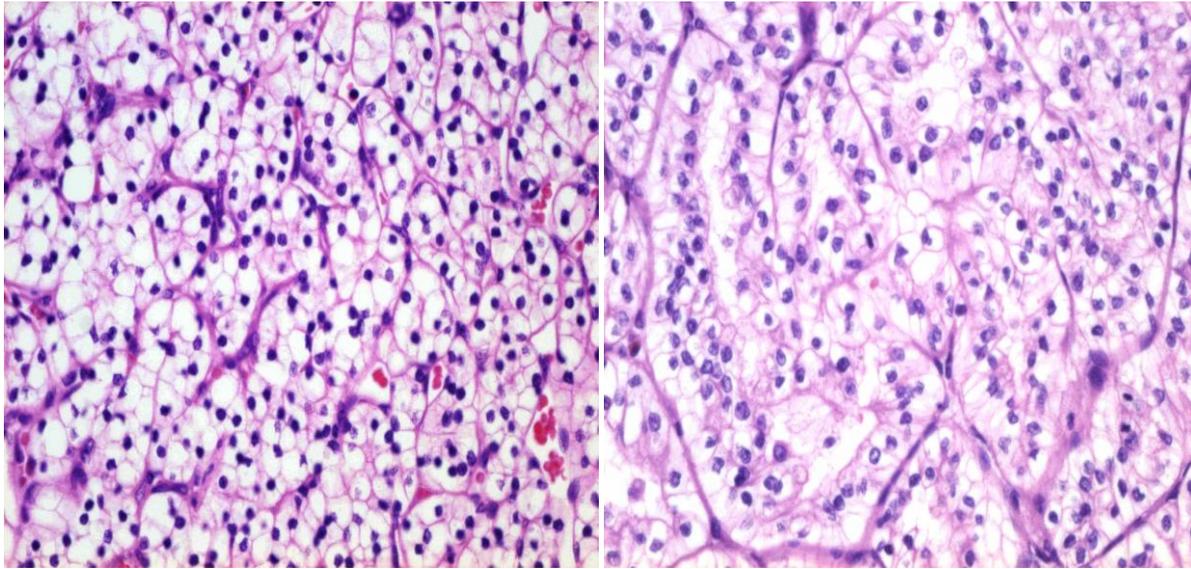
4.2. GRADO NUCLEAR.

Las características nucleares del CCR son muy variables: tamaño, forma, presencia o ausencia de nucléolo, y aspecto de la cromatina. Se han propuesto varios sistemas de graduación basándose en estas características.

Actualmente el sistema más utilizado es el de Fuhrman que incluye 4 grados⁸⁸. Las características identificadas en cada grupo usando un objetivo de 10 aumentos (10x) se describen en la tabla 5 y figura 9.

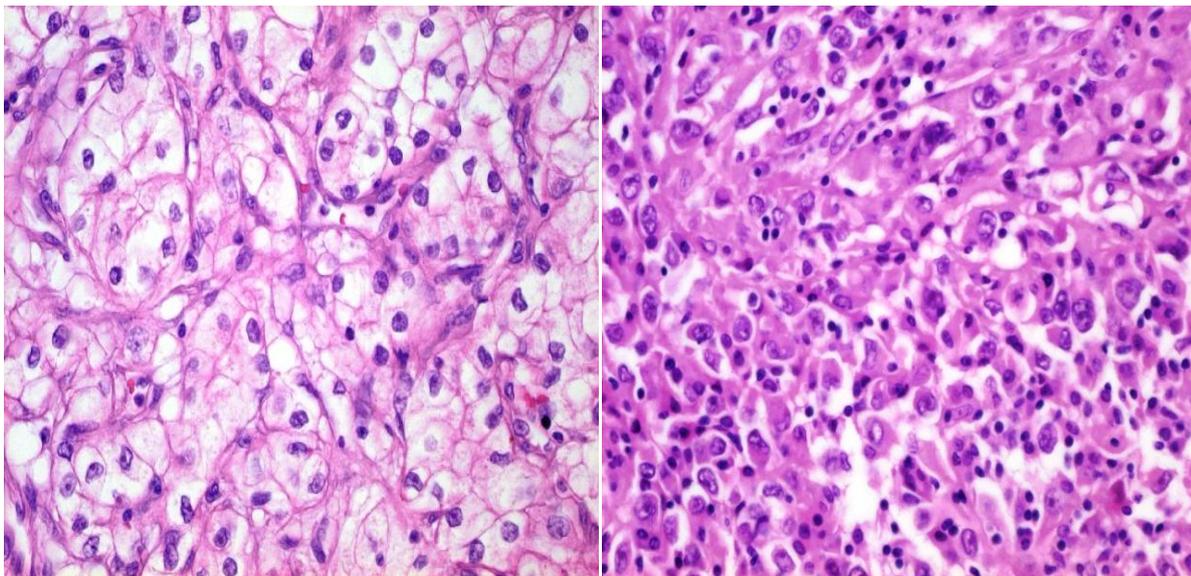
Tabla 5. Grado nuclear. Clasificación de Fuhrman.

GRADO	TAMAÑO NUCLEAR (μm)	CONTORNO NUCLEAR	NUCLEOLO
1	10 μm	Redondo, uniforme, poco detalle cromatínico	Ausente o desapercibido
2	15 μm	Discretamente irregular. Cromatina finamente granular	Inaparente (visible a 400 aumentos)
3	20 μm	Entre moderada y marcadamente irregular.	Evidente a 100 aumentos
4	≥ 20 μm	Pleomórfico, frecuentemente lobulado. Grumos gruesos de cromatina	Prominente, único o múltiple



Grado 1

Grado 2



Grado 3

Grado 4

Figura 9. *Grado Nuclear según la Clasificación de Fuhrman (HE, 40x).*

5. PRESENTACIÓN CLÍNICA DEL CCR.

Hematuria, dolor y masa en flanco constituyen la triada de síntomas clásica de presentación, pero en aproximadamente un 40% de los pacientes no se presenta de este modo sino con sintomatología sistémica que incluye pérdida de peso, dolor abdominal, anorexia, y fiebre. La elevación de la velocidad de sedimentación globular se observa en un 50% de los casos y la anemia no relacionada con hematuria en un 33%. Hepatoesplenomegalia, coagulopatía y elevación de la fosfatasa alcalina sérica, transaminasas y alfa-2-globulina pueden ocurrir en ausencia de metástasis hepáticas. Un 3% de los pacientes presentan amiloidosis de tipo AA ⁸⁹.

El CCR puede inducir síndromes paraneoplásicos endocrinos incluyendo pseudohiperparatiroidismo, eritrocitosis, hipertensión y ginecomastia. La hipercalcemia en ausencia de metástasis óseas ocurre en aproximadamente un 10% de los pacientes y en un 20% de los casos con enfermedad diseminada. En aproximadamente un 66% de los pacientes la eritropoyetina está elevada., pero menos de un 4% tienen eritrocitosis. Un 33% tienen hipertensión, a menudo con concentraciones elevadas de renina en la vena renal del riñón afectado. La ginecomastia puede aparecer como consecuencia de la producción de gonadotropina o prolactina por las células tumorales.

El CCR también puede presentarse como enfermedad metastásica de origen desconocido, a menudo en localizaciones poco usuales⁸⁹.

6. DIAGNÓSTICO CLÍNICO Y CLASIFICACIÓN TNM DEL CCR.

En 1958, Flocks y Kadesky⁹⁰, tras revisar 353 casos de CCR, fueron los primeros en proponer un sistema formal que estratificaba a los pacientes de acuerdo a la afectación tumoral basada en características tumorales físicas y la localización de la extensión tumoral y propusieron el primer sistema de clasificación por estadios, destacando la importancia de la afectación ganglionar y de la presencia o no de metástasis.

En 1969, Robson y col ⁹¹ modificaron este sistema, resaltando la importancia de la invasión vascular, después de realizar un estudio retrospectivo de 88 casos de CCR que demostraba

una mejoría en los resultados de la cirugía comparado con otras series de tumores renales tratados mediante nefrectomía simple. Este estudio resaltaba la importancia de los principios quirúrgicos básicos para el tratamiento de los tumores renales y de la estratificación de la extensión del tumor para determinar el pronóstico de los pacientes. Posteriormente múltiples estudios demostraron la mejoría en la evolución de estos pacientes tratados con nefrectomía radical, con un 75-95% de supervivencia a los 5 años para los tumores localizados, en comparación con el 66% de supervivencia en los pacientes tratados con nefrectomía simple en las series anteriores.

El sistema propuesto por la UICC (Union Internatinationale Contre le Cancer) y la AJCC (American Joint Committee on Cancer) es la **clasificación TNM**, en la que se señala la importancia de la extensión del tumor primario, la implicación de los ganglios linfáticos y la presencia o ausencia de metástasis a distancia⁹².

En 1990, Hermanek y cols propusieron algunas modificaciones que fueron adoptadas por la mayoría de los investigadores. En primer lugar, cuantificaron la diferencia entre el estadio T1 y T2, estableciendo el punto de corte en 2,5 cm. En segundo lugar, establecieron una reclasificación de los ganglios linfáticos según su tamaño, en lugar de su localización, número y aspecto macroscópico. Y por último, crearon estadios considerando el impacto conjunto de la T, N y M⁹³. Aunque en un principio se consideró un sistema complejo, tras los cambios realizados en 1992 y en 1997, se estableció como un buen sistema indicador de pronóstico que se correlacionaba con la supervivencia y los periodos libres de enfermedad⁹². Posteriormente, continuó siendo objeto de estudio y revisiones debido a los nuevos datos emergentes.

En la clasificación del año 2002, las principales modificaciones que se hicieron fueron la subdivisión del T1 (T1a hasta 4 cm y T1b entre 4 y 7 cm), la inclusión de la afectación de la grasa del seno renal como T3a y el reconocimiento de la infiltración de la pared de la vena renal como T3c^{94, 95}. Estas modificaciones en la clasificación de 2002 no implicaban variaciones en el agrupamiento por estadios respecto a la revisión de 1997 (Tabla 6 y Tabla 7).

En la **séptima clasificación TNM del 2009** se establecen las siguientes modificaciones (Tabla 6):

- El estadio T2 se subdivide en T2a (tumores mayores de 7 cm pero menores o iguales a 10 cm) y T2b (tumores mayores de 10 cm).
- La infiltración de la glándula suprarrenal ipsilateral se reclasifica como T4 si la afectación es por contigüidad o M1 si es a distancia.
- La afectación de la vena renal se reclasifica como T3a
- La afectación ganglionar se simplifica en N0 o N1.

La estratificación por estadios se mantiene sin cambios con respecto a las clasificaciones anteriores (Tabla 8).

Tabla 6. Estadaje postquirúrgico (Clasificación TNM. UICC/ AJCC 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. Estadíaje postquirúrgico (Clasificación TNM. UICC/ AJCC 2009).

TUMOR PRIMARIO (T)

- TX : El tumor primario no puede evaluarse
- T0: Ninguna evidencia de tumor primario
- T1: Tumor menor o igual de 7 cm de tamaño máximo, limitado al riñón
 - T1a: Tumor menor o igual a 4 cm, limitado al riñón
 - T1b: Tumor mayor de 4 cm pero menor o igual de 7 cm, limitado al riñón
- T2 : Tumor mayor 7 cm , limitado al riñón
 - T2a: Tumores mayores de 7 cm pero menores o iguales a 10 cm.
 - T2b:Tumores mayores de 10 cm.
- T3: Tumor que se extiende a la vena renal o tejidos perirrenales, pero no sobrepasa la fascia de Gerota ni invade la glándula suprarrenal ipsilateral.
 - T3a: El tumor infiltra macroscópicamente la vena renal o sus ramas segmentarias o tejidos perirrenales y/o grasa hiliar, pero no sobrepasa la fascia de Gerota.
 - T3b: El tumor se extiende macroscópicamente a la vena cava por debajo del diafragma
 - T3c: El tumor se extiende macroscópicamente a la vena cava por encima del diafragma o invade la pared de la vena cava
- T4: El tumor invade más allá de la fascia de Gerota (incluyendo extensión por contigüidad a la glándula suprarrenal ipsilateral).

GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES (N)

- N0: No evidencia de metástasis en ganglios linfáticos regionales
- N1: Metástasis en uno o más ganglios regionales

METÁSTASIS A DISTANCIA (M)

- Mx: No puede evaluarse
- M0: Sin metástasis a distancia
- M1: Metástasis a distancia

Tabla 8 . Estadios en el CCR.

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

7. TRATAMIENTO DEL CCR.

La acción terapéutica en el CCR esta determinada básicamente por el estadio tumoral, considerándose tres categorías estratégicas: CCR localizado (T1,T2), CCR localmente avanzado (T3, T4, N0M0) y CCR metastásico (T1-4, N+M+).

La escisión quirúrgica del tumor es el tratamiento curativo estándar en el cáncer renal localizado. Tradicionalmente escisión quirúrgica del tumor significaba nefrectomía radical: extirpación renal extrafascial incluyendo la glándula suprarrenal homolateral y linfadenectomía regional completa, procurando el control-ligadura de los vasos hiliares antes de movilizar el tumor⁹⁶. Actualmente esta exigencia como conducta general está superada y la escisión tumoral con margen quirúrgico de seguridad en el CCR estadio T1a aporta tasas de curación similares a la nefrectomía y posiblemente también sea una acción terapéutica adecuada en los CCR estadio T1b. La extirpación de la glándula adrenal homolateral sólo debe hacerse cuando se muestra aumentada de tamaño y cuando el cáncer afecta extensamente a la porción superior del riñón^{97,98}. Los beneficios de la linfadenectomía completa no están bien definidos. La tendencia más prodigada es la de extirpar los ganglios parahiliares y regionales en los pacientes de bajo riesgo⁹⁷. El abordaje quirúrgico lo determina el tamaño y localización del tumor, el hábito corporal del paciente y la habilidad-experiencia del cirujano. La nefrectomía suele hacerse por vía transperitoneal y en la tumorectomía con margen de seguridad el abordaje suele realizarse por lumbotomía extraperitoneal. Tanto la nefrectomía completa como la nefrectomía parcial pueden realizarse mediante abordaje laparoscópico. La nefrectomía laparoscópica en tumores renales estadio T1 cumple las exigencias formales de la cirugía abierta y aporta tasas de supervivencia similares comportando beneficios evidentes en morbilidad para el paciente. Las mismas consideraciones se pueden hacer para la nefrectomía parcial laparoscópica en CCR estadio T1a^{96,97}.

Una opción de tratamiento alternativo a la cirugía del CCR estadio T1a es la ablación térmica mediante abordaje percutáneo o laparoscópico con crioterapia o radiofrecuencia, especialmente en pacientes con importante comorbilidad y alto riesgo con cirugía convencional y como tratamiento en tumores renales hereditarios. También la observación

se considera una opción posible para CCR estadio T1a en pacientes ancianos o con importante comorbilidad asociada^{99, 100, 101} .

El tratamiento del CCR con extensión extrarrenal sin metástasis es la cirugía. En estos estadios el tratamiento quirúrgico se rige por los conceptos clásicos de la cirugía oncológica, la escisión completa del tumor con margen de seguridad y no tienen cabida los abordajes menos exigentes considerados como opciones terapéuticas en los CCR localizados. En los CCR con trombo tumoral venoso (T3b-c) el tratamiento quirúrgico implica la nefrectomía radical y trombectomía de la vena cava inferior, independientemente de la extensión cefálica del trombo; la tasa de curación en estos cánceres es del 45-70% y no está bien definido el significado pronóstico del nivel cefálico del trombo^{96, 97} . En los CCR localmente invasores (T4) también el tratamiento es quirúrgico, resección extensa en bloque del riñón tumoral con los órganos adyacentes comprometidos, generalmente bazo, intestino o músculos de pared abdominal. Actualmente se están definiendo los beneficios potenciales de asociar en estos pacientes tratamientos sistémicos con inhibidores de tirosin-quinasa.

El enfoque terapéutico en el CCR con metástasis está actualmente redefiniéndose como consecuencia de la respuesta obtenida con terapias combinadas que integran la cirugía y tratamientos sistémicos con citocinas o fármacos diseñados para silenciar vías de señalización implicadas en la biología de los CCR. La nefrectomía habitualmente se ha considerado una acción necesaria en este estadio para paliar síndromes paraneoplásicos acusados y como tratamiento de la hemorragia anemizante . Los resultados de estudios de tratamiento combinado en CCR con metástasis sincrónicas avalan la nefrectomía citorreductora asociada a tratamientos sistémicos en casos seleccionados, pacientes con CCR de células claras con buen estado general y que no tengan metástasis en lugares críticos. El beneficio de la nefrectomía citorreductora en estos cánceres puede explicarse por la inmunodepresión inducida por el tumor primario, disfunción inmunitaria que se revierte con la extirpación del tumor y por la capacidad de CCR de expresar factores promotores tumorales^{102, 103} .

Como tratamientos sistémicos asociados se han evidenciado respuestas objetivas con citocinas (interferon- α e interleuquina 2) e inhibidores de las vías de señal del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y del factor de crecimiento derivado de plaquetas y de la mTOR. Actualmente se están definiendo el momento y forma de uso de medicamentos como el Bevacizumab (ligando del VEGF circulante), sorafenib y sunitinib (inhibidores múltiples de receptores tirosin-quinasa) y temsirolimus, inhibidor de la vía mTOR^{104, 105, 106, 107}.

8. FACTORES PRONÓSTICOS.

Se denominan factores pronósticos aquellos datos capaces de suministrar información sobre la evolución que puede experimentar un enfermo en particular.

Los recientes avances en el conocimiento de la patogénesis, comportamiento biológico y biología molecular del CCR han preparado el camino para las investigaciones que tienen como objetivo una mejora en el diagnóstico temprano, en la predicción del pronóstico y en la supervivencia de estos pacientes.

La utilización de variables de significado pronóstico es esencial para la estratificación de los pacientes en categorías de significado clínico que puedan ser utilizadas no sólo para ofrecer a los pacientes una estimación de su pronóstico, sino también para seleccionar modalidades de tratamiento y determinar la posible inclusión de estos pacientes en los distintos ensayos clínicos.

El sistema TNM es actualmente el más ampliamente utilizado en la clasificación por estadios en el CCR.

Los sistemas integrados de clasificación de los pacientes, que combinan variables importantes tanto clínicas como patológicas, están siendo creados en un intento de mejorar la predicción del pronóstico del sistema TNM.

8.1. FACTORES PRONÓSTICOS CONSIDERADOS EN LA CLASIFICACIÓN TNM.

8.1.1. TAMAÑO TUMORAL.

El tamaño del tumor primario es un componente clave en el sistema TNM y ha sido siempre uno de los factores pronósticos más importantes en el CCR. Los estudios realizados demuestran que la supervivencia varía en relación con el tamaño tumoral^{108, 109} (Figura 10).

El punto de corte entre T1 y T2 establecido en la clasificación de 1987 es modificado posteriormente en 1997 ya que algunos estudios muestran que no se objetivan diferencias en el pronóstico a este nivel (2,5 cm) y finalmente se establece como punto de corte los 7 cm⁹².

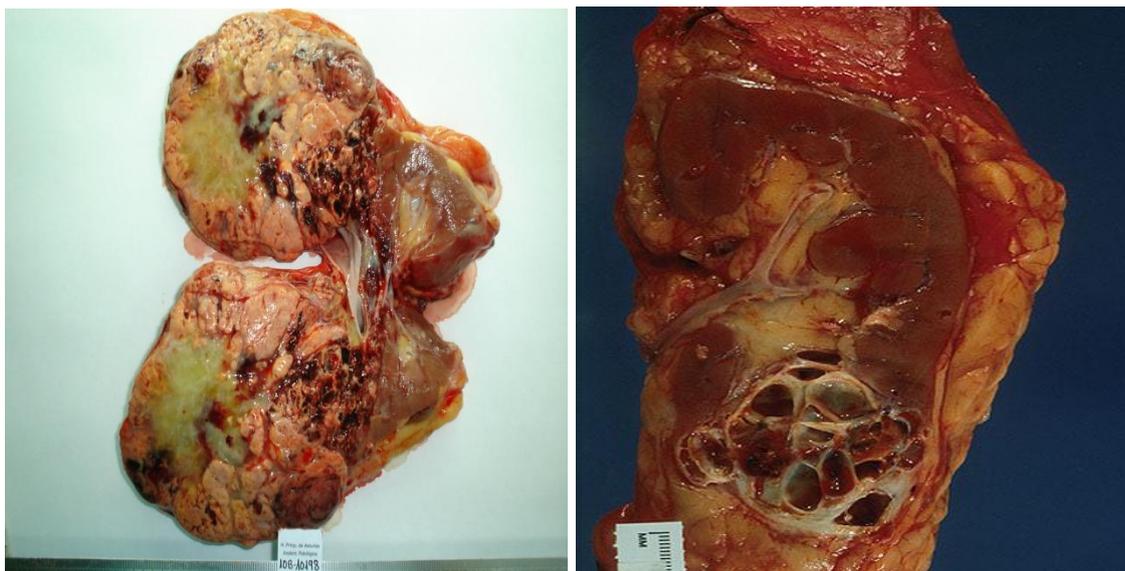


Figura 10. Carcinoma de células renales. Aspecto macroscópico.

La elección cada vez más generalizada de realizar nefrectomía parcial en tumores de pequeño tamaño ha hecho que el criterio de elección del punto de corte para el tamaño de T1 sea no sólo importante en términos de valor pronóstico, sino también en relación a la posibilidad de realizar cirugía conservadora.

Múltiples estudios han evaluado el criterio de tamaño óptimo para T1 en función del cual someter a los pacientes a nefrectomía parcial o total, y sugieren puntos de corte

alternativos. A pesar de que estos estudios no se ponen de acuerdo con punto de corte óptimo, todos ellos demuestran que el tamaño tumoral es un importante factor determinante.

Hafez y col.¹¹⁰ intentaron delimitar este punto de corte óptimo y en su estudio, los pacientes con tumores T1 menores o iguales a 4 cm que eran sometidos a nefrectomía parcial tenían una significativa mejor supervivencia comparados con los de tumores de mayor tamaño.

A lo largo de la pasada década, evidencias obtenidas a partir de series de casos clínicos aún mayores, han demostrado la efectividad y seguridad de la nefrectomía parcial en el tratamiento de tumores renales menores o iguales a 4 cm¹¹¹. Como consecuencia de todo esto, en la clasificación TNM de 2002 la categoría T1 se divide en T1a y T1b en base al punto de corte de los 4 cm⁹⁴.

Además de esto, hay datos recientes que sugieren que la nefrectomía parcial puede también ser el tratamiento de elección para tumores que, aún siendo mayores de 4 cm, tienen una localización accesible y son susceptibles de resección con márgenes seguros^{112,113}.

En los últimos años ha habido también un empeño en mejorar el pronóstico de los tumores T2 mediante una estratificación más definida según su tamaño. Frank y cols¹¹⁴ analizaron 544 pacientes con tumores T2 y encontraron que los tumores >10 cm se comportaban de manera más agresiva en comparación con los tumores de entre 7 y 10 cm, después de ajustar por afectación de ganglios regionales y metástasis a distancia.

Además, un estudio internacional multicéntrico más reciente con 706 pacientes en estadio T2 concluye que los tumores >11 cm se asocian a la presencia de enfermedad metastásica comparados con aquellos entre 7 y 11 cm, y obtiene unas tasas de supervivencia a los 5 y 10 años de 73% y 65% para los tumores T2 menores o iguales a 11 cm, y de 57% y 49% para los tumores T2 > 11cm, respectivamente¹¹⁵.

Todos estos datos sugerían que una subclasificación del estadio T2 podría facilitar la identificación de aquellos pacientes con un alto riesgo de progresión de la enfermedad. De este modo, en la séptima clasificación TNM del 2009, se ha establecido la subdivisión de los

T2 en T2a para los mayores de 7 cm y menores o iguales a 10 cm y T2b para o mayores de 10 cm.

8.1.2. AFECTACIÓN DEL TEJIDO ADIPOSO PERIRRENAL Y PERIPÉLVICO (DEL SENO RENAL).

La supervivencia libre de enfermedad a los 5 años para el estadio T3 varía entre 37 y 67%, lo que refleja que esta amplia categoría incluye varias situaciones clínicas que afectan a la extensión tumoral más allá de la cápsula renal ¹¹⁶. En la séptima clasificación TNM del 2009, los tumores que infiltran el tejido adiposo perirrenal o del seno renal, pero no más allá de la fascia de Gerota son clasificados como T3a. El impacto de la invasión del tejido adiposo en el pronóstico de los pacientes con CCR ha sido bien documentado¹¹⁷, sin embargo, también se ha estudiado cómo las diferentes localizaciones de la invasión del tejido adiposo podrían suponer un diferente pronóstico. Thompson¹¹⁸ estudió 162 pacientes con invasión del tejido adiposo perirrenal periférico y 43 con infiltración del tejido adiposo del seno renal y encontró que estos últimos tenían un mayor riesgo de afectación de ganglios linfáticos regionales, mayor grado y una mayor incidencia de diferenciación sarcomatosa. Los pacientes con infiltración de la grasa del seno renal tenían 1,6 veces más probabilidad de morir por su CCR que aquellos con infiltración del tejido adiposo perirrenal. Además, el riesgo de muerte se mantenía en el análisis multivariante tras ajustar por afectación de ganglios linfáticos y por la presencia o no de metástasis a distancia.

8.1.3. INVASIÓN DE LA GLÁNDULA SUPRARRENAL.

Son pocos los pacientes que presentan infiltración de la glándula suprarrenal del mismo lado en el momento del diagnóstico¹¹⁹. La anterior clasificación TNM del 2002 incluía a estos pacientes en el grupo T3a, que también incluía a los tumores con infiltración de la grasa perirrenal, no más allá de la fascia de Gerota.

Sin embargo, recientes estudios han mostrado que los tumores con infiltración directa de la glándula suprarrenal se comportan peor que los que sólo muestran infiltración de la grasa perirrenal^{120, 121}. Como consecuencia de esto, en la séptima clasificación TNM del 2009, se ha reclasificado la infiltración directa de la glándula suprarrenal ipsilateral como T4.

Muchos estudios sugieren que la inclusión sistemática de la glándula suprarrenal en la nefrectomía radical no es necesaria en todos los casos^{119, 122}. La baja tasa de recurrencia local tras la nefrectomía parcial en el tratamiento del CCR, la cual por definición no incluye la extirpación de la glándula suprarrenal, cuestiona la utilidad de la adrenalectomía sistemática¹⁰². Paul y cols¹²² examinaron 866 pacientes con CCR que fueron sometidos a nefrectomía radical y suprarrenalectomía del mismo lado. Veintisiete pacientes (3.1%) tenían metástasis suprarrenales de los cuales 4 mostraban afectación bilateral o contralateral. En este estudio además el tamaño tumoral > 8 cm y la presencia de metástasis se encontraban como factores independientes que predecían la afectación suprarrenal. Los datos actuales muestran que la tasa de metástasis suprarrenal es baja y que las técnicas de diagnóstico por imagen modernas tienen la sensibilidad necesaria para detectar la posible afectación de la glándula suprarrenal en el CCR. Gracias a esto, la mayoría de los pacientes con CCR se pueden ahorrar la morbilidad que conlleva una suprarrenalectomía ipsilateral.

8.1.4. EXTENSIÓN DEL TROMBO VENOSO TUMORAL.

Un 4-9% de los pacientes con CCR tienen invasión del sistema venoso en el momento del diagnóstico^{123, 124}. En el año 1997, la presencia de trombosis tumoral en vena cava inferior localizada por encima del diafragma, previamente clasificada como T4, es reclasificada como T3c, y la afectación trombótica por debajo del diafragma, previamente T3c, es reclasificada como T3b con invasión de la vena renal⁹². La mayoría de los estudios no han encontrado diferencias en la supervivencia basadas en el nivel de afectación de la vena renal o en la relación de afectación de la vena renal o de la vena cava inferior¹²⁵. Sin embargo, algunos estudios recientes muestran que la supervivencia a largo plazo puede ser significativamente mejor en los pacientes con afectación de la vena renal en comparación con los pacientes con afectación de la vena cava inferior.

Kim y cols¹²⁶ estudiaron y compararon 226 pacientes sometidos a nefrectomía con afectación trombótica tumoral de la vena renal o de la vena cava inferior, con 654 pacientes sometidos a nefrectomía sin afectación venosa. Encontraron que en los pacientes con tumores localizados (NOMO) la supervivencia específica era similar en los pacientes con afectación de la vena renal y de la vena cava inferior por debajo del

diafragma. Sin embargo, en los pacientes con afectación de la vena cava inferior por encima del diafragma (T3c) el pronóstico es significativamente peor incluso después de ajustar el grado y el estado general del paciente en un análisis multivariante. La importancia de estos hallazgos queda reflejada en los cambios de la séptima clasificación TNM del 2009.

Por otro lado, estudiando una serie de pacientes con y sin afectación venosa tratados con nefrectomía con y sin trombectomía respectivamente, Zisman y cols ¹²⁷ concluyen sugiriendo que, si bien la afectación venosa es un indicador de mal pronóstico, estos pacientes pueden ser curados con resección quirúrgica agresiva independientemente del grado de extensión del trombo tumoral (Figura 11).

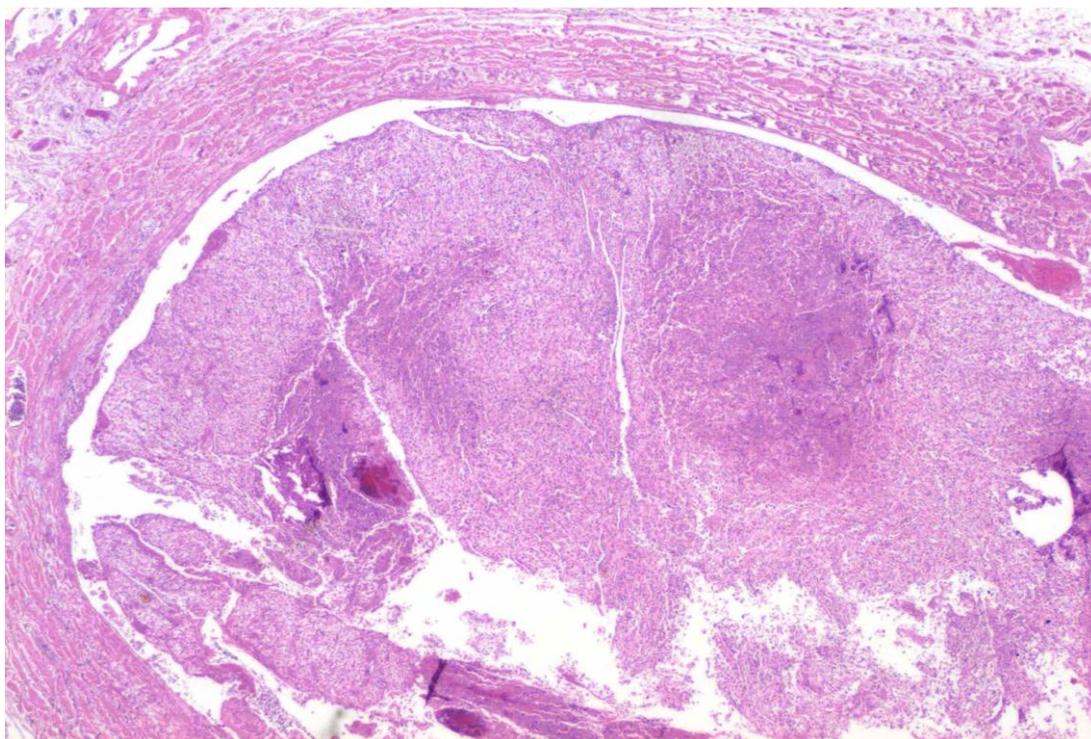


Figura 11. *Infiltración trombótica de la vena renal (HE, 4x).*

8.1.5. AFECTACIÓN DE GANGLIOS LINFÁTICOS.

Es riesgo general de presentar metástasis ganglionares en el CCR es del 20% y la tasa de supervivencia a los 5 años de los pacientes con afectación ganglionar varía entre el 11% y el 35%^{128, 129, 130}. Sin embargo, este riesgo varía dependiendo del estadio del tumor primario y del tamaño, de la afectación vascular, de la presencia de metástasis y de la extensión de la linfadenectomía realizada^{128, 129, 130, 131}.

Los pacientes con enfermedad clínicamente localizada tienen una relativa baja incidencia (2-9%) de afectación ganglionar¹³¹, mientras que los pacientes con enfermedad metastásica o infiltración vascular tienen una incidencia de hasta el 45%¹²⁸.

La realización de linfadenectomía podría curar potencialmente a aquellos pacientes con extensión tumoral limitada a los ganglios linfáticos, sin embargo no existe en la actualidad una prueba diagnóstica de imagen que pueda detectar de forma segura la presencia de metástasis ganglionares. Según algunos estudios, entre los pacientes con metástasis ganglionares en el diagnóstico, un 30% corresponden a afectación microscópica del ganglio¹³⁰. Por otro lado, la tasa de falsos positivos del TAC y NM en la detección de metástasis es baja (4%), sin embargo la especificidad es también baja ya que de todos los ganglios linfáticos aumentados de tamaño detectados mediante estas técnicas sólo un 40% corresponden a metástasis ganglionares existentes en el momento de la cirugía¹³².

En la sexta edición de la clasificación TNM del 2002 se especificaba que el examen histológico de la linfadenectomía regional debía incluir al menos 8 ganglios linfáticos⁹⁴, y consideraba necesaria la subclasificación N1-N2, apoyada por los resultados de algunas publicaciones¹³³. Sin embargo, los estudios más recientes al respecto como el de Terrone apuntan a un pronóstico similar para la afectación ganglionar, independientemente de su extensión¹³⁴.

Dimashkieh y cols¹³⁵ analizaron la asociación entre las características patológicas de la afectación ganglionar y la evolución en una serie de pacientes con CCR unilateral esporádico tratados con nefrectomía radical y encontraron un aumento del doble en el riesgo de muerte por CCR en aquellos pacientes con metástasis ganglionares con extensión

extracapsular respecto a los pacientes con afectación ganglionar dentro de los límites de la cápsula.

Por otro lado, Pantuck y cols^{128, 129} evaluaron el impacto de la afectación ganglionar en la respuesta a inmunoterapia en una serie de 900 pacientes y encontraron que los pacientes con metástasis ganglionares mostraban una peor respuesta a la inmunoterapia. Pero además, aquellos pacientes con metástasis ganglionares sometidos a linfadenectomía, mostraban una mejor respuesta a la inmunoterapia en comparación con los pacientes con metástasis ganglionares no sometidos a linfadenectomía, pudiéndose explicar esta diferencia en parte por la observación de que el componente neoplásico localizado en los ganglios linfáticos infiltrados rara vez responde a la inmunoterapia.

8.1.6. PRESENCIA O AUSENCIA DE METÁSTASIS.

Las metástasis a distancia del CCR pueden aparecer en cualquier parte del cuerpo, pero las localizaciones más frecuentemente afectadas son los pulmones y el esqueleto. Algunos estudios recientes sugieren que el número de localizaciones metastásicas, más que la localización, determina el pronóstico general e incluso la respuesta a inmunoterapia¹³⁶.

En la actualidad, determinados grupos de pacientes con enfermedad metastásica han experimentado mejorías en la supervivencia. Este avance se relaciona en parte con la introducción de la inmunoterapia y un mejor conocimiento del papel y las consecuencias de la nefrectomía citorreductora. La mejor evidencia de los resultados de la nefrectomía citorreductora se obtienen de dos estudios clínicos prospectivos randomizados del Southwestern Oncology Group (SWOG 8949) y de la European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC 30947)^{137, 138}, que han puesto de manifiesto los beneficios de la nefrectomía seguida de INF-alfa comparada con el tratamiento únicamente con INF-alfa. Según estos estudios, la nefrectomía citorreductora mejora la supervivencia general en los pacientes con CCR metastático tratados con INF-alfa, independientemente del estado general del paciente (performance status), localización de las metástasis y la presencia de masa tumoral medible.

Investigadores de la Universidad de California–Los Angeles (UCLA) han comparado los hallazgos de SWOG con datos retrospectivos que revelan la relativa eficacia de INF-alfa e

interleuquina 2 (IL-2) después de la nefrectomía y han encontrado una supervivencia media de 4 meses más (30%) para la nefrectomía seguida de IL-2¹³⁹. Estos datos enfatizan la necesidad de determinar si esta ventaja en la supervivencia podría mejorarse con inmunoterapia más agresiva con otros principios activos nuevos, en el contexto de la nefrectomía citorreductora.

8.2. FACTORES PRONÓSTICOS HISTOLÓGICOS.

Durante décadas se ha considerado al CCR como una entidad única con múltiples apariencias histológicas posibles. En la actualidad, se le considera como a una familia de neoplasias resultantes de diversas alteraciones genéticas, que comparten características morfológicas y un origen común en el epitelio tubular renal.

Aparte de las ya conocidas variables de significado pronóstico anatómicas, numerosos criterios histológicos podrían tener también un impacto en el pronóstico de los pacientes con CCR.

8.2.1. EL GRADO NUCLEAR.

Como ya se ha comentado, Fuhrman desarrolló su sistema de clasificación del grado nuclear de cuatro categorías basándose en el tamaño del núcleo y del nucléolo, en la forma y en las características de la cromatina y hoy en día es el sistema más ampliamente utilizado.

Según algunos estudios el grado nuclear se correlaciona con el estadio tumoral, el tamaño tumoral, la presencia de metástasis, la afectación ganglionar, la infiltración vascular y la infiltración del tejido adiposo perirrenal¹⁴⁰.

En las distintas series existe un predominio de los grados intermedios, sin embargo las diferencias en el pronóstico fundamentalmente se detectan en los grados extremos^{141, 142, 143}.

Aunque existe controversia en lo que concierne a la reproductibilidad del grado entre distintos observadores y a los puntos de corte relevantes entre los distintos grados y la

supervivencia, el sistema de clasificación de Fuhrman continúa siendo el más aceptado y utilizado.

8.2.2. SUBTIPO HISTOLÓGICO.

El actual sistema de clasificación se basa en las conclusiones desarrolladas por la UICC y la AJCC¹⁴⁴. El origen celular del CCR determina los distintos subtipos histológicos.

De los 4 principales subgrupos, el CCR de células claras es el más común (70-80%). El CCR papilar es el siguiente en frecuencia (10-20%) y se divide en dos grupos basándose en su apariencia morfológica. El CCR papilar tipo 2 se comporta de manera más agresiva que el tipo 1 y en algunos estudios se comporta como factor pronóstico independiente que predice una peor supervivencia.¹⁴⁵

El CCR cromóforo supone un 5% de los casos y en algunos estudios se asocia a una mayor supervivencia global en comparación con los otros tipos de CCR^{146, 147}.

El carcinoma de ductos colectores es una variante histológica rara (menos del 1%) y muy agresiva de CCR¹⁴⁸.

El carcinoma renal medular es un subgrupo dentro del carcinoma de ductos colectores, que casi exclusivamente se diagnostica en pacientes de raza negra con enfermedad de células falciformes y también tiene un comportamiento agresivo¹⁴⁹.

La cuestión de si las diferentes variantes de CCR conllevan diferentes resultados en la supervivencia continúa siendo un punto de controversia. Un estudio multicéntrico internacional que incluye 4063 pacientes con CCR tratados mediante resección quirúrgica muestra que el pronóstico de los pacientes con CCR cromóforo es mejor que el de aquellos con los subtipos papilar y de célula clara, pero también muestra que todos ellos tienen una supervivencia equivalente cuando se ajusta por el grado y estadio y en el análisis multivariante el subtipo histológico no se comporta como un factor pronóstico independiente que afecte a la supervivencia¹⁵⁰.

8.2.3. LA DIFERENCIACIÓN SARCOMATOIDE.

El CCR sarcomatoide fue descrito por primera vez en 1968 como una variante histológica separada constituida por células fusiformes muy pleomórficas. En la actualidad se considera una forma de dediferenciación del CCR de alto grado tipificada como la presencia de un componente con patrón de crecimiento fusiforme, que se observa infrecuentemente (en menos del 5% de los casos) y se asocia a un peor pronóstico^{151, 87}. Las características sarcomatoides se pueden observar en cualquiera de los subtipos histológicos del CCR.

8.2.4. LA NECROSIS COAGULATIVA TUMORAL.

La necrosis coagulativa tumoral se define como la presencia de acúmulos homogéneos de células tumorales muertas o degeneradas que forman un coágulo amorfo eosinofílico con la tinción de hematoxilina-eosina. La presencia de necrosis tumoral se ha encontrado asociada a marcadores de enfermedad avanzada¹⁵². También se ha asociado con una peor supervivencia¹⁴⁶.

Moch y cols¹⁴⁷ encuentran que la presencia de necrosis tumoral es un factor independiente que predice un mal pronóstico en el CCR de células claras pero no en el papilar.

Sengupta y cols¹⁵³ evalúan 3009 pacientes sometidos a nefrectomía por CCR, observando la presencia de necrosis tumoral en 28%, 47% y 20% de los subtipos células claras, papilar y cromóforo, respectivamente. Concluyen que la necrosis tumoral histológica es un fuerte factor pronóstico independiente en el CCR de células claras pero no en los subtipos papilar y cromóforo.

Lam y cols¹⁵² estudian 310 pacientes con CCR y encuentran que la presencia de necrosis tumoral histológica es un factor pronóstico independiente de la supervivencia sólo en los pacientes con enfermedad localizada pero no en los que tienen metástasis (Figura 12).

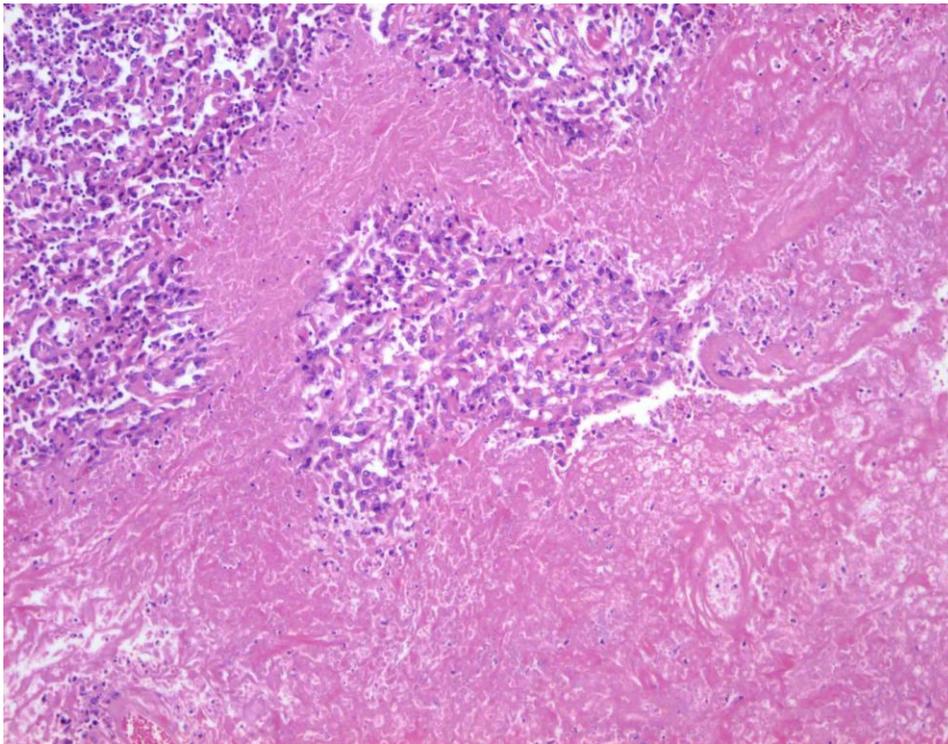


Figura 12. *Necrosis coagulativa tumoral en el CCR (HE, 20x).*

8.2.5. INVASIÓN DEL SISTEMA COLECTOR.

Existe hasta la fecha actual cierta controversia en cuanto al impacto que pudiera tener la afectación del sistema colector por parte del tumor en el pronóstico, y aunque en general los distintos estudios publicados al respecto parecen encontrar una asociación con un estadio más avanzado y un mayor grado nuclear, no todos estos estudios concluyen que pueda considerarse como un factor independiente indicador de pronóstico.

Uzzo y cols¹⁵⁴ revisaron 426 piezas de nefrectomía en su estudio y determinaron que la incidencia global de infiltración del sistema de ductos colectores era del 14%¹⁵⁴ y parecía estar asociada al subtipo histológico de células claras, a un mayor grado histológico, a un estadio TNM más avanzado y a un mayor tamaño tumoral. Encontraron también que la afectación del sistema de ductos colectores no parecía afectar al pronóstico en los tumores con estadio T3 o mayor mientras que en los tumores con estadios más bajos (T1 y T2) se asociaba con un peor pronóstico y con una supervivencia media de sólo 46 meses.

Palapattu y cols¹⁵⁵ revisaron 895 casos de pacientes sometidos a nefrectomía por CCR y observaron además que la afectación del sistema de ductos colectores se asociaba a la presencia de síntomas, a un estadio T más elevado y a la presencia de enfermedad metastásica, pero no encontraron diferencias en la incidencia entre los distintos subtipos histológicos.

Posteriormente, Terrone y cols¹⁵⁶ analizaron 671 tumores y encontraron que los pacientes con invasión del sistema colector presentaban síntomas en el momento del diagnóstico y tenían tumores con un mayor grado y estadio tumoral, sin embargo, en estos pacientes, la invasión del sistema colector no se comportaba como un factor independiente indicador de pronóstico.

8.2.6. INVASIÓN MICROVASCULAR.

La microinfiltración vascular se observa en el análisis histológico cuando las células tumorales infiltran la pared de los pequeños vasos e invaden la luz de los mismos. En el momento en que las células neoplásicas invaden el torrente sanguíneo, la diseminación hematológica es una potencial vía para el desarrollo de metástasis. Se ha determinado una incidencia de MIV en el CCR del 12-28%^{157, 158, 159}. Hasta hace poco se suponía que la MIV no tenía un papel determinante del pronóstico en el CCR. Sin embargo, datos más recientes podrían demostrar lo contrario.

Van Poppel y cols¹⁵⁷ estudiaron 180 nefrectomías por CCR. Tras un periodo de seguimiento de 4 años, el 39,2% de los pacientes con MIV mostraban progresión de la enfermedad en comparación con un 6,2% de los pacientes sin MIV. El análisis multivariante determinó que la MIV fue el factor pronóstico independiente más importante.

Gonçalves y cols¹⁵⁸ encontraron una asociación entre la MIV y otras variables de significado pronóstico tales como el tamaño tumoral, la infiltración del tejido perirrenal, el grado nuclear alto, la afectación de ganglios linfáticos y la diferenciación sarcomatoide y también, que la MIV es un factor independiente capaz de predecir la recurrencia.

8.2.7. EL INFILTRADO DE CÉLULAS MONONUCLEARES.

Recientemente se ha renovado el interés por la identificación de factores patológicos específicos que puedan predecir una favorable o desfavorable interacción entre la respuesta del sistema inmune y el tumor. La presencia de un infiltrado inflamatorio de células mononucleares marcado se relaciona con un mejor pronóstico en otros tumores sólidos como los de pulmón, ovario y páncreas^{160, 161, 162}. Sin embargo, el impacto del infiltrado inflamatorio de células mononucleares en la biología y en el pronóstico del CCR ha sido hasta ahora objeto de controversia. Algunos estudios sugieren que su presencia en altos niveles se correlaciona con un peor pronóstico, mientras que otros estudios llegan a la conclusión de que no existe tal correlación^{163, 164, 165, 166, 167} (Figura 13).

Los resultados de Webster y cols¹⁶⁸ indican que la presencia de este tipo de infiltrado inflamatorio se relaciona con una probabilidad dos veces mayor de muerte por CCR en comparación con los que no lo muestran, incluso se comporta como factor pronóstico independiente en el análisis multivariable.

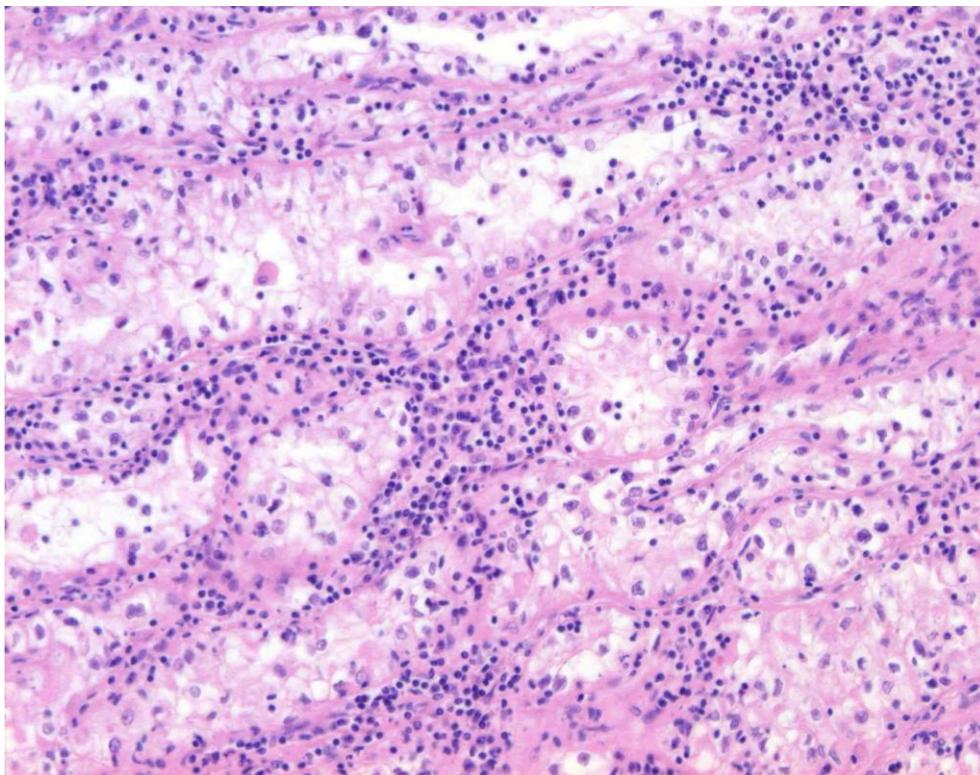


Figura 13. *Infiltrado inflamatorio de células mononucleares en el CCR (HE, 40x).*

8.2.8. DENSIDAD MICROVASCULAR (MVD).

La densidad microvascular es una variable cuantificable que refleja la vascularización tumoral. Su valor como factor pronóstico en el CCR no está bien determinado. Muchos estudios han mostrado una correlación positiva entre la MDV y la supervivencia^{198, 199}, mientras que otros han encontrado una relación inversa^{200, 201} y otros en cambio no han sido capaces de identificar ninguna correlación significativa²⁰² (Figura 14).

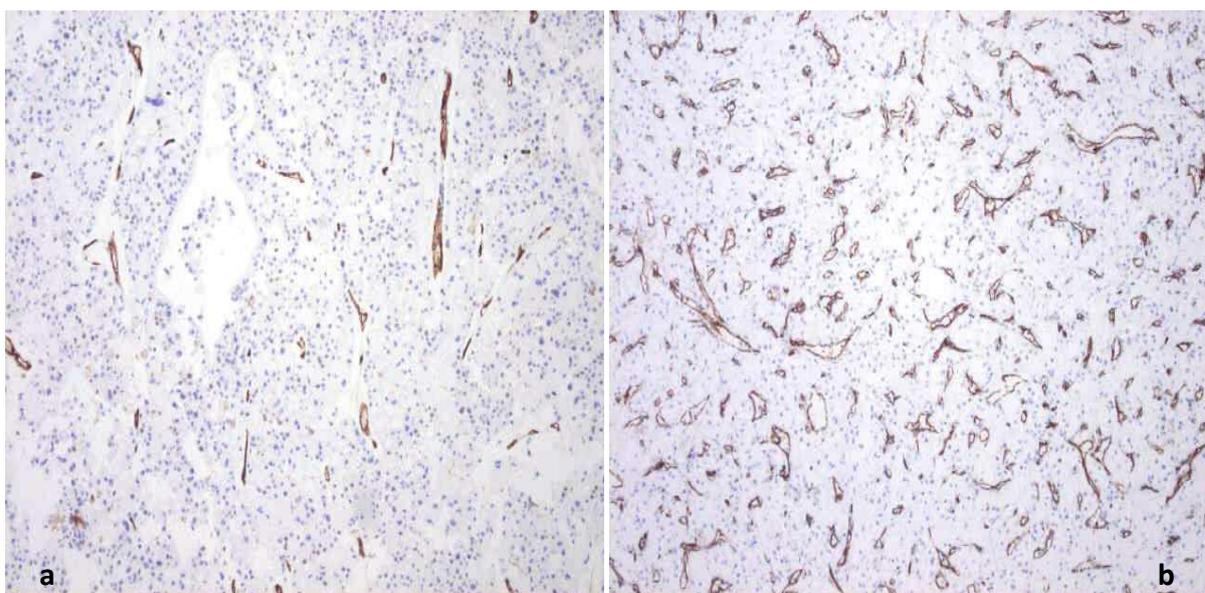


Figura 14. Densidad microvascular alta (a) y baja (b) (CD31, 10x).

8.3. FACTORES CLÍNICOS.

8.3.1. ESTADO GENERAL DEL PACIENTE.

Las escalas de Karnofsky o ECOG (Eastern Cooperative Oncology Group) para determinar el estado general constituyen un común denominador del impacto global que suponen los múltiples síntomas y signos sobre el paciente y a menudo son utilizados como criterio para elegir cuáles de estos pacientes entrarán a formar parte de los distintos ensayos clínicos.

La escala ECOG-PS es un sistema de puntuación de 0 a 4 que estratifica a los pacientes en base a su estado ambulatorio y se utiliza para denotar el impacto de la enfermedad en el estado de salud global del paciente (Tabla 9).

Tabla 9. 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 escala de Karnofsky es similar pero difiere de la escala ECOG-PS en que la mayor puntuación significa un mejor estado general (Tabla 10).

Tabla 10 . 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

Hay estudios que han demostrado que la puntuación obtenida en la escala ECOG se comporta como un factor pronóstico independiente en pacientes con CCR metastático en el momento del diagnóstico, correlacionándose las mayores puntuaciones con un peor pronóstico¹⁶⁹.

Tsui y cols han evaluado el papel de la escala ECOG en todos los estadios y han encontrado que un peor estado general, expresado como puntuaciones más elevadas en la escala ECOG, se comportaba como un factor independiente capaz de predecir un peor pronóstico¹⁴².

Además, el estado general podría ser también un factor independiente capaz de predecir el desarrollo de metástasis óseas en pacientes con CCR, según un estudio de Shvarts y cols¹⁷⁰.

8.3.2. ALTERACIONES ANALÍTICAS RELACIONADAS CON LA RESPUESTA INFLAMATORIA.

Es bien conocido que la progresión de la enfermedad en el CCR depende de una compleja interacción entre el tumor y la reacción inflamatoria del huésped¹⁷¹.

Los niveles séricos de **proteína C reactiva** se asocian al pronóstico en los pacientes con CCR avanzado y localizado^{172, 173, 174, 175}. La causa de los niveles séricos aumentados de PCR en los pacientes con CCR es la excesiva producción de IL-6, una citoquina con múltiples funciones que ejerce como factor de crecimiento en el CCR.

La IL-6 se ha relacionado con el estadio, el grado y el índice proliferativo tumoral¹⁷⁶, así como con la supervivencia libre de enfermedad y con la supervivencia global en pacientes con CCR metastático¹⁷⁷.

La velocidad de sedimentación globular (VSD) se ha considerado desde hace tiempo como un indicador no específico de inflamación. La utilidad pronóstica de la VSG en los pacientes con CCR ha sido estudiada.

Lehmann y cols¹⁷⁸ encuentran como mejor factor pronóstico de supervivencia cáncer específica y supervivencia libre de enfermedad en los pacientes con CCR no metastático, después del tamaño tumoral y la presentación sintomática, la VSG, con niveles de VSG > 70mm/h indicando un peor pronóstico.

Sengupta y cols¹⁷⁹ recientemente han comunicado que una elevada VSG en pacientes con CCR sugiere la presencia de enfermedad agresiva y peores resultados tras el tratamiento quirúrgico.

8.3.3. SÍNTOMAS PARANEOPLÁSICOS.

Aproximadamente un 20% de los pacientes diagnosticados de CCR presentan síntomas paraneoplásicos y entre el 10 y el 40% presentarán síntomas paraneoplásicos durante el curso de su enfermedad¹⁸⁰.

Los fenómenos paraneoplásicos representan una constelación de signos y síntomas que resultan de la liberación humoral de proteínas asociadas al tumor. Estas proteínas pueden ser elaboradas directamente por el tumor o por el sistema inmune en respuesta al tumor. Como regla general, los efectos paraneoplásicos remiten tras la resección completa de la masa tumoral.

En las series más actuales de pacientes con CCR, los hallazgos paraneoplásicos más comunes son: anemia, disfunción hepática, pérdida de peso, malestar general, hipoalbuminemia e hipercalcemia¹⁸⁰. Si bien estos hallazgos en los pacientes con CCR suelen representar efectos paraneoplásicos, esto debe confirmarse siempre con documentación adecuada de la resolución de los mismos tras la completa resección del tumor.

La mayoría de los efectos ocurren más frecuentemente en los pacientes con enfermedad localizada, lo que sugiere que están más en relación con la biología del tumor más que con la simple extensión local o a distancia del mismo.

Según un estudio los síntomas que se identifican como factores de peor pronóstico independientemente del estadio, grado y estado general son hipoalbuminemia, pérdida de peso, anorexia, y malestar. Estos cuatro factores son también signos asociados con caquexia tumoral¹⁸⁰.

Otros autores sugieren además que son los signos y síntomas específicos (por ejemplo los hallazgos relacionados con la caquexia), y no la simple presencia o ausencia de síntomas en general los que tienen un significado pronóstico¹⁸¹.

8.3.4. TROMBOCITOSIS.

La presencia de trombocitosis (recuento de plaquetas $> 400,000 \text{ mm}^3$) es un factor pronóstico independiente de peores resultados tras la nefrectomía y terapia adyuvante, en pacientes con CCR metastásico, y en los pacientes con CCR localizado tras nefrectomía, y se relaciona con una menor supervivencia¹⁸². La trombocitosis preoperatoria se asocia a un estadio T más elevado y a afectación ganglionar e implica una peor DSS¹⁸³.

8.4. FACTORES PRONÓSTICOS MOLECULARES.

Numerosos estudios moleculares sobre el CCR se han llevado a cabo, haciendo de este uno de los cánceres genéticamente mejor conocidos y entendidos. Con la disponibilidad de herramientas moleculares tan avanzadas como la genómica y la proteómica, la patogénesis molecular del CCR ha sido casi completamente desvelada.

En los últimos años, mediante las técnicas basadas en matrices de genes, que analizan la expresión diferencial de miles de genes, se está intentando identificar un amplio abanico de potenciales marcadores moleculares pronósticos que posteriormente deberían ser validados en poblaciones de pacientes amplias antes de ser integrados en un sistema evaluador de pronóstico^{184, 185}. Una herramienta muy útil para la evaluación de un número limitado de estos marcadores son las micromatrices de tejido o “tissue microarrays” (TMA), que permiten la evaluación de la expresión de proteínas y de forma paralela, la detección in situ de ADN y ARN en un mismo grupo de muestras, para posteriormente correlacionar los resultados con los datos clínicos, respecto a la progresión de la enfermedad, respuesta al tratamiento y supervivencia¹⁸⁶.

En la actualidad ya se han identificado varios posibles marcadores moleculares cuyas alteraciones a nivel genético y de expresión podrían tener importancia en el pronóstico del CCR, y de forma paralela se está investigando en el desarrollo de terapias específicas para combatir estas alteraciones (Tabla 11).

Tabla 11. Marcadores estudiados en el CCR.

Marcadores estudiados en el CCR	
<ul style="list-style-type: none"> • De apoptosis. <ul style="list-style-type: none"> - Bax - BCL2 - BIRC 5 (Survivina) - CLU (Clusterina) - CTSD (Catepsina D) - DIABL 0 (Direct IAP binding protein with low pl) - IGF 1 R (Receptor del factor de crecimiento de insulina) - VEGF-A(Factor de crecimiento del endotelio vascular) 	<ul style="list-style-type: none"> • Regulación de la respuesta inmune. <ul style="list-style-type: none"> - CCL4 (MIP Iβ) (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)
<ul style="list-style-type: none"> • De degeneración de la matriz extracelular. <ul style="list-style-type: none"> - 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) - PLAUR(Receptor del Activador del plasminógeno de tipo uroquinasa) - SERPINA I (PA I) (Serine proteinase inhibitor) - 	<ul style="list-style-type: none"> • Moléculas de adhesión celular. <ul style="list-style-type: none"> - 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)
<ul style="list-style-type: none"> • De regulación del ciclo celular. <ul style="list-style-type: none"> - P21 - CAVI (Caveolina-I) - CDKN1B (p27, Kip I) - EGFR (Receptor del factor de crecimiento epidérmico) - GMNN (Genminina) - MCM 2 (proteína <i>MiniChromosomeManteinance</i>) - MK 167 (Ki-67) - NME I (nm 23) - PCNA (Antígeno nuclear de proliferación celular) - RB I (PRb) (Proteína del retinoblastoma) - PRDX2 (peroxiredoxina2) - SDT 1 (Espermina) - SKP 2 - TIMP 1(Inhibidor de tejido de metaloprotetasas de matriz-1) - TIMP 2 (Inhibidor de tejido de metaloprotetasas 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 	<ul style="list-style-type: none"> • Factores inducidos por hipoxia. <ul style="list-style-type: none"> - CA IX (Anhidrasa carbónica-9) - EN 6 (Endogлина) - 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)

Marcadores estudiados en el CCR	
<ul style="list-style-type: none"> • Proliferación. - Ki 67 - PCNA (Antígeno nuclear de proliferación celular) - AgNOR (proteínas asociadas a las regiones organizadoras nucleolares argirófilas) 	<ul style="list-style-type: none"> • 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 (Fragilehistidine 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) - Neopterina - TAT1 (Proteín 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

8.4.1. ANHIDRASA CARBÓNICA IX.

La anhidrasa carbónica (CA IX) tiene un papel importante en la regulación del pH intracelular y extracelular durante los periodos de hipoxia en las células tumorales. La CA IX se localiza en la parte baja de la vía de la proteína tumoral supresora Von Hippel-Lindau (VHL) y su expresión es regulada en parte por la hipoxia a través del factor inducible por hipoxia 1-alfa (HIF1alfa)^{187, 188}. La pérdida de función del VHL conlleva un aumento de la expresión de la CA IX.

La CA IX no se expresa normalmente en el tejido renal fetal ni en el adulto, lo que sugiere que no tiene un papel en la organogénesis sino más bien es producto de la biología tumoral¹⁸⁹. Se ha demostrado la existencia de un aumento en la expresión del gen de la CA IX en el CCR^{190, 191}, pero varía entre los distintos tumores renales y se ha detectado mediante tinción inmunohistoquímica en los CCR de células claras, granulares, con

diferenciación sarcomatoide y en los papilares, pero no en el CCR cromóforo ni en el oncocitoma ¹⁹².

Según los resultados del estudio de Bui y cols, una tinción disminuida de CA IX se puede considerar como un indicador pronóstico independiente de peor supervivencia en pacientes con enfermedad metastásica y en los pacientes con CCR localizado con riesgo de progresión ¹⁹³.

La expresión de CA IX también se relaciona con una mejor respuesta a la inmunoterapia con IL-2¹⁹³. Este hallazgo podría en parte explicar porqué los pacientes con CCR de los subtipos cromóforo y papilar, los cuales muestran una expresión reducida de CA IX, responden mejor a este tratamiento.

A pesar de que estos hallazgos podrían tener importantes implicaciones pronósticas para mejorar la selección de pacientes con CCR metastásico candidatos a inmunoterapia, la evaluación de la expresión de CA IX se restringe en la actualidad al ámbito de la investigación y se utiliza sólo en el contexto de ensayos clínicos.

8.4.2. FACTOR INDUCIBLE POR HIPOXIA 1-ALFA (HIF 1-ALFA).

El factor 1 inducido por hipoxia es regulado en su biosíntesis a través de la señal fosfatidilinositol 3-kinasa-AKT-mTOR de la vía de transducción y regulada a nivel postraslacional por la hipoxia mediante la proteína supresora Von Hippel-Lindau (VHL). La expresión de HIF 1-alfa no se detecta en el tejido renal normal. Muchos estudios se han focalizado en el examen de las mutaciones del gen VHL en el CCR y en la expresión de HIF 1-alfa derivada de estas. Estos estudios muestran un alto porcentaje de expresión de HIF 1-alfa independientemente de si existe o no mutación del gen VHL, y un igual o mayor porcentaje cuando el análisis se limita al grupo de tumores con mutación en el gen VHL. Los CRR de subtipos distintos al de células claras no muestran mutaciones en el gen VHL y por tanto, la resultante expresión de HIF 1-alfa se objetiva en un menor porcentaje^{194, 195}.

En un estudio sobre una serie de 92 pacientes sometidos a nefrectomía por CCR se ha estudiado el posible papel de HIF 1-alfa como factor determinante del pronóstico. Se observa en este estudio que el HIF 1-alfa tiene una expresión diferente en los distintos

subtipos histológicos, encontrándose la máxima expresión en el CCR de células claras y comportándose dicha expresión como un factor pronóstico favorable e independiente¹⁹⁶.

8.4.3. FACTORES MOLECULARES RELACIONADOS CON LA ANGIOGÉNESIS: LIGANDOS Y RECEPTORES DEL FACTOR DE CRECIMIENTO ENDOTELIAL VASCULAR (VEGF).

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF-A) es una glicoproteína dimérica miembro de la superfamilia PDGF de factores de crecimiento, que incluye además a VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E y el factor de crecimiento placentario. El VEGF-A es una citoquina secretada por las células tumorales y de gran importancia en la angiogénesis normal y tumoral, así como en la linfangiogénesis, y es un producto de la vía HIF¹⁹⁷.

El reconocimiento de la expresión de la familia de los receptores de VEGF (VEGF-R) podría individualizar la selección de terapias específicas basadas en la biología tumoral y optimizar el efecto beneficioso de los fármacos dirigidos contra estas vías de supervivencia tumoral en el CCR.

8.4.4. FACTORES MOLECULARES RELACIONADOS CON LA PROLIFERACIÓN CELULAR: KI67.

Existen numerosas publicaciones sobre estudios realizados para determinar la utilidad en la determinación del pronóstico de los marcadores de proliferación, en el CCR. La expresión aumentada del antígeno nuclear de proliferación tumoral (PCNA), de ki67 y del organizador nucleolar de las regiones argirofílicas (Ag-NORs) se correlaciona con una peor supervivencia en diferentes estudios realizados sobre series cortas de pacientes con CCR. Entre estos marcadores, Ki67 se ha considerado como el indicador de proliferación más fiable en la actualidad^{198,199}.

Ki67 es una proteína de 395 kilodalton, codificada por un único gen localizado en el cromosoma 10 (10q25). Es un indicador de la proliferación celular, que se expresa de forma exclusiva en el núcleo de las células en las fases G1, S, G2 y M del ciclo celular, y está implicado en la duplicación del ADN mediante el ARNm codificado por el gen Ki67²⁰⁰. El desarrollo del anticuerpo monoclonal MIB-1 ha hecho posible la detección de Ki67 mediante técnicas de inmunohistoquímica en tejidos incluidos en parafina²⁰¹.

Distintos estudios de series publicadas confirman el papel de la proliferación celular en la progresión del CCR. La expresión de ki67 se correlaciona con el grado nuclear y con el estadio tumoral pero además, una elevada expresión de ki67 se asocia a una menor supervivencia, y a una mayor probabilidad de recidiva, independientemente del grado nuclear y del estadio tumoral²⁰².

8.4.5. FACTORES MOLECULARES RELACIONADOS CON LA APOPTOSIS.

8.4.5.1. p53.

El gen supresor tumoral p53 es considerado como el “guardián del genoma” ya que tiene un papel vital en la regulación del ciclo celular induciendo la apoptosis celular cuando ocurre un daño en el DNA. El gen p53 está situado en el brazo corto del cromosoma 17 y está compuesto por 11 exones. Su producto es una fosfoproteína nuclear de 53 Kd formada por 393 aminoácidos (proteína p53), cuya función es inducir una parada en la transición de la fase G1 a S en el ciclo celular, en respuesta a la presencia de daño en el ADN. Esto permite la reparación de las alteraciones del ADN, y en el caso de que no sea posible, conduce a la célula a la vía de la apoptosis o muerte celular programada. La proteína p53 tiene una vida media muy corta, por lo que en condiciones normales no se puede detectar su presencia. Las mutaciones del gen p53 conllevan habitualmente la pérdida de la función de la proteína resultante, lo que causa un aumento de su vida media, y por tanto su acumulación en la célula. Esto permite su detección mediante técnicas de inmunohistoquímica²⁰³.

El papel de p53 en el pronóstico del CCR ha sido evaluado en distintos estudios con series de pacientes de diferente tamaño comportándose como un factor independiente de mal pronóstico. En las distintas series se encuentra una expresión de p53 en el CCR de entre 16-57%^{204,205,206,207} y según algunos autores varía en función del subtipo celular y del grado nuclear siendo más frecuentemente detectada en el CCR papilar en comparación con los subtipos cromóforo y de células claras²⁰⁸ y más frecuentemente en el CCR de alto grado (grados 3 y 4)²⁰⁹.

8.4.5.2. MDM2.

El gen MDM2 se localiza en el brazo largo del cromosoma 12 y codifica la proteína mdm2, que se encuentra funcionalmente muy relacionada con la proteína p53, de tal manera que, la transcripción del gen MDM2 se encuentra regulada por la proteína p53 “wild-tipe”. Además, la proteína producto del protooncogén MDM2 es capaz de unirse a p53 e inactivar por un lado, su función fisiológica como regulador de la transcripción y del ciclo celular, y por otro lado, inhibir la función de p53 sobre la transcripción de su propio gen^{210,211}.

En la actualidad pocos estudios se han realizado para evaluar la repercusión de la expresión de MDM2 en el pronóstico del CCR, y los resultados muestran la controversia existente al respecto^{209, 214} (Figura 15).

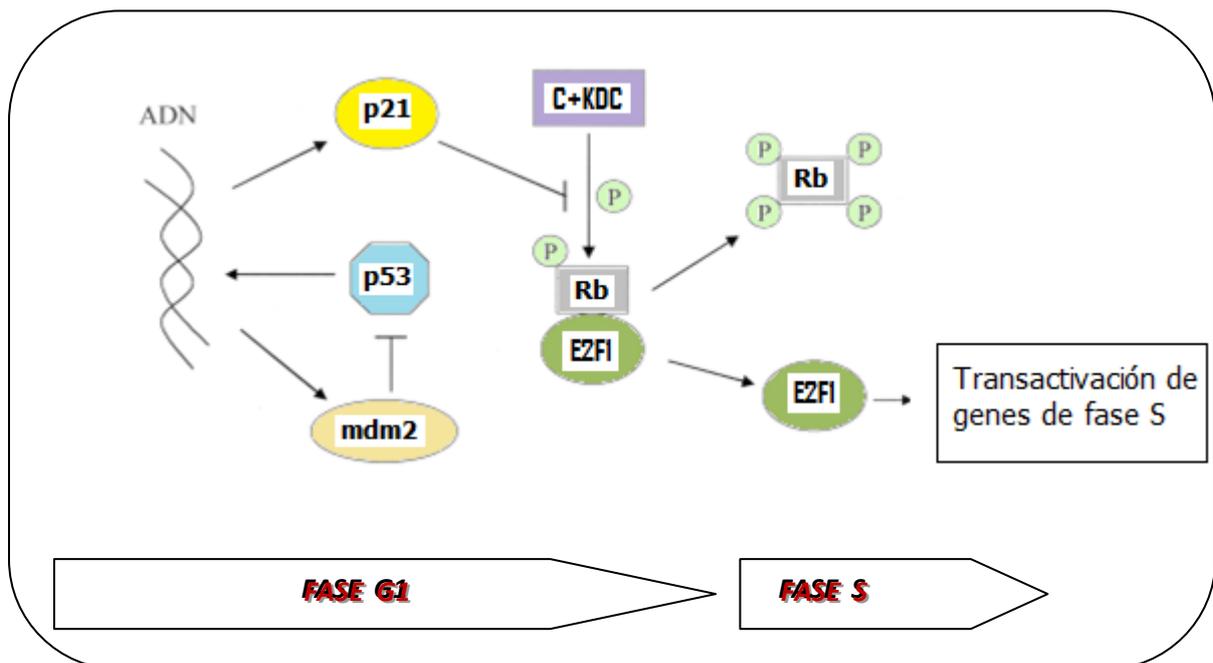


Figura 15. Regulación de la transición de la fase G1 a S en el ciclo celular. En la fase G1 del ciclo celular, el promotor de fase S, E2F1, se encuentra unido a la forma hipofosforilada de la proteína retinoblastoma (Rb). Con el progreso de la fase G1, Rb es fosforilada por complejos proteicos formados por ciclinas y kinasas dependientes de ciclinas (C + KDC), generando el estado hiperfosforilado de Rb (Rb con cuatro grupos fosfato). La hiperfosforilación de Rb permite la liberación de E2F1 desde el complejo formado con Rb, el cual promueve la transactivación de genes que participan en la fase S del ciclo celular. La proteína p53 induce la expresión de las proteínas mdm2 y p21. La proteína p21 inhibe (H) la fosforilación de Rb dependiente de C + KDC. Por otro lado, mdm2 mantiene bajos los niveles de p53, inhibiendo su efecto antiproliferativo. P indica fosforilación.

8.4.5.3. Bcl-2.

El gen de bcl-2 es un proto-oncogén que se localiza en la región 18q21 y codifica una proteína que tiene por función inhibir la apoptosis en las células programadas para ello, de forma que aumenta su vida media deteniendo el ciclo celular en la fase G₀²¹². Mediante técnicas de inmunohistoquímica se ha detectado su presencia en una gran variedad de tejidos en el ser humano (células precursoras hematopoyéticas, epitelio glandular de la mama, tiroides, próstata, piel, tejido nervioso y riñón fetal). En el riñón adulto la expresión de bcl-2 se observa predominantemente en la vertiente parietal de la cápsula de Bowman y en las células epiteliales del túbulo contorneado distal del asa de Henle, pero no en las células epiteliales del túbulo proximal, donde se originan la mayoría de los tumores²¹³.

Su expresión aumentada tiene un papel importante en la génesis tumoral en general, sin embargo no está aún claro cuál es su papel en el CCR. Existen publicaciones con resultados poco coincidentes en relación a la expresión de bcl-2 en el CCR, que, según estos estudios, varía entre un 10 y un 80%^{213, 214, 215}.

Algunos estudios realizados sobre tumores localizados encuentran una correlación significativa entre la expresión de bcl-2 y el grado tumoral alto, pero no con el riesgo de recurrencia, de metástasis o con la supervivencia global, mientras que en otros estudios se correlaciona con una mejor supervivencia y un grado nuclear y estadio bajos^{219, 220}.

La expresión de bcl-2 también se ha estudiado en una serie de CCR de células claras avanzado en estadio T3 sometidos a nefrectomía y resección de los focos metastásicos. En estos tumores, se detectó una expresión inmunohistoquímica de bcl-2 baja o ausente, y no mostraba relación con la supervivencia libre de enfermedad ni con DSS. Los focos metastásicos, sin embargo mostraron una mayor expresión de bcl-2²¹⁶.

La incertidumbre persiste por lo tanto en la actualidad, en lo concerniente al papel pronóstico de bcl-2 en el CCR.

8.4.5.4. Survivina.

La survivina es un miembro de la familia de proteínas inhibidoras de la apoptosis (IAP) que se expresa normalmente en las células durante el desarrollo embrionario y fetal. En las

células normales del adulto sano el gen de la survivina se encuentra desactivado. De alguna manera, en las células cancerígenas este gen se reactiva y permite a la célula escapar a los puntos de control y dividirse libremente. De manera llamativa se ha detectado la expresión de survivina en casi todos los tipos de cáncer humano estudiados hasta la fecha, incluido el CCR²¹⁷. A pesar de que su papel como inhibidor de la apoptosis está bien reconocido, los mecanismos exactos por los que esto ocurre no están del todo aclarados. Se cree que ejerce su función inhibidora mediante bloqueo preferencial de la apoptosis dependiente de mitocondrias actuando sobre la caspasa 9 y Smac/DIABLO. Además de esta actividad antiapoptótica, la survivina tiene un papel importante en la mitosis y en la estabilidad de microtúbulos^{218, 220, 221}.

Parker y cols²¹⁹ cuantifican la expresión de survivina en 312 CCR de células claras y analizan su asociación con la progresión de la enfermedad y la supervivencia específica en relación con el tumor. Los pacientes con expresión alta de survivina tenían mayor riesgo de muerte por el CCR que los pacientes con niveles bajos de expresión. La tasa de DSS a los 5 años fue del 43% para los pacientes con expresión alta y del 87.2% para los pacientes con expresión baja. En el análisis multivariante, la expresión de survivina se mantenía asociada al riesgo de muerte por CCR incluso después de ajustar en función de ECOG-PS, estadio TNM, grado y la puntuación SSIGN de la clínica Mayo. En los 273 pacientes con CCR de células claras localizado, la expresión de survivina mostró una asociación significativa con la progresión del CCR.

8.4.6. REGULADORES DEL CICLO CELULAR.

8.4.6.1. PTEN (Phosphatasa and tensin homologue deleted on chromosome 10) y pAKT.

Akt es una subfamilia de protein-quinasas implicadas en regular el balance entre supervivencia y apoptosis celular mediante la vía de señalización PI3K-AKT-mTOR. Uno de los mecanismos de activación de Akt es la inactivación del gen supresor tumoral PTEN (phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10) que se localiza en 10q23.3 y codifica una fosfatasa lipídica que defosforila la posición 3- del fosfatidil inositol 3,4,5-trifosfato (PIP3) inactivándolo. La unión de Akt a PIP3 en la vertiente interna de la

membrana citoplasmática permite que la quinasa PDK1 fosforile a Akt activándola (pAkt). Akt fosforilada y activada modula la actividad de una cascada de proteínas relacionadas con la supervivencia y proliferación celular^{220, 220}.

Akt se encuentra hiperactivado en algunos tipos de tumores malignos en humanos y se piensa que esta activación tiene un importante papel en la carcinogénesis y progresión de estos tumores^{221, 222, 223}.

El gen de PTEN se encuentra también mutado en varios tipos de cáncer humano, y su ausencia o disminución en su expresión se asocia con la progresión tumoral y un peor pronóstico^{224, 225, 226}.

En el CCR, a pesar de que las mutaciones del gen de PTEN son infrecuentes^{227, 228} sí se ha observado una disminución en la expresión de PTEN²²⁹. En el CCR también se ha observado un aumento de la frecuencia de la activación de Akt pero los mecanismos que originan esta activación no están bien aclarados aún²³⁰. Algunos estudios sugieren que la pérdida de la función de PTEN puede ser un mecanismo subyacente a la activación de Akt.

Según concluyen algunos estudios, la expresión disminuida de PTEN se comporta como un factor independiente asociado a una menor supervivencia en pacientes con CCR de células claras metastático²³⁸.

Se ha observado que la inhibición de la activación de Akt inhibe la proliferación celular en algunas líneas celulares de tumores malignos, y se ha considerado este punto como una posible diana terapéutica. Los datos preclínicos obtenidos en algunos estudios sugieren que los agentes terapéuticos dirigidos contra esta vía de señalización, podrían tener un mayor efecto en tumores que carecen del gen supresor PTEN. Pantuk y cols²³¹ realizaron un estudio de 417 pacientes mediante TMA para evaluar el potencial y las limitaciones del uso como diana terapéutica de la vía mTOR en el CCR. Observaron que los pacientes con activación de la vía mTOR podrían beneficiarse más de este tipo de terapia, pero con diferencias según el subtipo histológico. Encontraron una pérdida de la expresión de PTEN más frecuentemente en el CCR en comparación con el tejido renal normal, siendo más significativa esta pérdida en el CCR de células claras con diferenciación sarcomatoide. La frecuencia de expresión de pAKT (phosphorilated AKT) fue mayor en los CCR de ductos

colectores (89%) y en los CCR de células claras, sugiriendo otras vías de activación diferentes a la pérdida de PTEN.

8.4.7. MOLÉCULAS DE ADHESIÓN.

Una amplia variedad de moléculas de adhesión han sido estudiadas en el CCR y parece que algunas pueden afectar al pronóstico, entre las que se encuentran la molécula CD44, la molécula de adhesión epitelial (EpcAM) y EphA2. De todas ellas la mejor estudiada y más relevante por su versatilidad es la molécula CD44.

CD44 pertenece a una amplia familia de moléculas de adhesión implicadas en las interacciones entre las células y la matriz extracelular. Anteriormente conocida como “homing receptor”, esta molécula interacciona con los miembros de la familia **ezrín** (ERM family) y forma complejos que tienen diversas funciones importantes tanto en las células normales como en las tumorales, y que afectan a la motilidad y migración celular, diferenciación, señales de transducción y transcripción genética. Estas propiedades sugieren que pueda tener un papel importante en la progresión tumoral y el desarrollo de metástasis^{232, 232}.

Los resultados obtenidos en el estudio de su posible relación con el pronóstico en el CCR son contradictorios: algunos estudios demuestran que se comporta como un factor pronóstico independiente²³³, mientras que otros lo encuentran fuertemente asociado al grado nuclear^{234, 235}.

8.4.8. METALOPROTEINASAS DE LA MATRIZ (MMP).

Las metaloproteinasas de la matriz son enzimas proteolíticas dependientes de zinc capaces de disgregar los componentes de la matriz extracelular.

Se ha demostrado que **MMP-2** y **MMP-9** influyen en la agresividad del CCR²³⁶.

La proporción de células de CCR que expresan **MMP-7** y la densidad de vasos positivos con MMP-7 se ha correlacionado con el grado, el estadio tumoral y la presencia de metástasis mediante un análisis multivariante: la expresión de MMP-7 se correlaciona con el estadio tumoral únicamente, mientras que la densidad de vasos MMP-7-positivos se correlaciona con la presencia de metástasis²³⁷.

8.4.9. MARCADORES DE INESTABILIDAD GENÉTICA.

Las proteínas MMR (Mismatch Repair) constituyen un importante grupo regulador de la estabilidad genética durante la proliferación celular, cuya función es la de corregir los desoxinucleótidos mal incorporados y las inserciones y deleciones erróneas durante la replicación del ADN.

Tanto los tumores de individuos con mutaciones hereditarias de de los genes MMR (como el síndrome de Lynch) como los tumores esporádicos con mutaciones inactivadoras de estos genes, muestran inestabilidad de microsatélites (IMS), debido a la incapacidad de las células para corregir las inserciones y deleciones erróneas en las secuencias repetidas.

Diferentes genes MMR se encuentran en el genoma humano. Los genes MSH (mut S homolog) incluyen hMSH2, 3, 4, 5 y 6. Además, están los genes hMLH1 (Mut L homolog) y hPMS1 y 2 (pos-meiotic segregation). A pesar de que todos los genes MMR están implicados en la reparación, sólo hMSH2, hMSH6, hMLH1 y hPMS2 se han relacionado con la carcinogénesis²³⁸.

Se ha detectado IMS en el CCR esporádico, lo que sugiere que los genes MMR podrían tener también un papel en la iniciación o progresión de estos tumores²³⁹.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

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 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 inmunexpresión de moléculas implicadas en la carcinogénesis y progresión del CCR localizado y 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.

2. OBJETIVOS.

I. Determinar en el CCR tratado mediante cirugía, el valor predictivo de pronóstico del perfil patológico tumoral mediante la valoración de:

- a. Variables anatomopatológicas convencionales: **Estadio pT, pN, tipo histológico y grado nuclear**
- b. Otras variables histológicas: **Necrosis coagulativa tumoral e infiltrado de células mononucleares.**

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

- a. Marcadores moleculares implicados en proliferación celular: **ki67**
- b. Marcadores moleculares implicados en la apoptosis celular y control del ciclo celular: **p53, MDM2, Bcl-2 y survivina**

MATERIAL Y MÉTODO

III. MATERIAL Y MÉTODO.

1. MUESTRA ANALIZADA.

El estudio se realizó sobre una muestra 148 pacientes diagnosticados de carcinoma de células renales (incluyendo cualquiera de los subtipos contemplados en la última clasificación de la OMS) y tratados mediante cirugía radical o conservadora en el Servicio de Urología del Hospital Universitario Príncipe de Asturias de Alcalá de Henares entre los años 1993 y 2006. La selección se basó en la disponibilidad de tejido fijado en formol e incluido en parafina almacenado en el archivo del Servicio de Anatomía Patológica.

El diagnóstico se llevó a cabo mediante la realización de una historia clínica, exploración física, determinaciones bioquímicas y hematológicas y pruebas de imagen (radiografía, ecografía y TAC abdominal). Todos los pacientes de la muestra fueron sometidos a cirugía con intención curativa (tumorectomía o nefrectomía). La valoración y clasificación histopatológica fue realizada en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital universitario Príncipe de Asturias. En ninguno de los casos incluidos en el estudio se practicó tratamiento coadyuvante de ningún tipo.

El seguimiento se realizó de forma periódica mediante TAC y ecografía abdominal, radiografía de tórax, hemograma y bioquímica.

2. PARÁMETROS CLÍNICOS.

Se valoraron los siguientes parámetros clínicos:

2.1. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO.

Para la valoración histopatológica de los especímenes se seleccionaron distintos cortes de las zonas más representativas del tumor, de sus límites y, en el caso de las nefrectomía totales, de su relación con la cápsula renal, la fascia de Gerota y el tejido

adiposo perirrenal, la pelvis renal y la vía urinaria, el seno renal y el hilio renal, incluyendo vena y arteria renal.

En relación con el tumor se analizaron los siguientes parámetros:

- **Tamaño tumoral:** medido en centímetros, determinando la medida del eje mayor del tumor.
- **Subtipo histológico:** Se determinó el subtipo histológico predominante en cada caso según la sexta edición de la clasificación de la OMS para el carcinoma de células renales (CCR), (Tabla 4).
- **Grado nuclear:** Se utilizaron los criterios de Fuhrman para clasificar los tumores según las características nucleares (tamaño y forma nuclear, aspecto de la cromatina y tamaño y presencia o ausencia de nucléolo) en cuatro grados (1, 2, 3 y 4) como se ha comentado anteriormente.
- **Afectación de la vena renal:** Se revisaron las descripciones macroscópicas de todos los casos y se realizó la confirmación histológica de los casos en los que se informa esta afectación.
- **Afectación de la cápsula renal:** Se valoró del mismo modo que el apartado anterior.
- **Infiltración del tejido adiposo perirrenal:** El método de valoración fue igual al de los dos apartados anteriores.
- **Infiltración de ganglios linfáticos regionales:** En los casos tratados mediante linfadenectomía regional se valoró la presencia de infiltración metastásica en los ganglios aislados, clasificando dicha afectación según los criterios descritos en la sexta edición de la clasificación TNM para el carcinoma renal:

N0 Ausencia de metástasis en ganglios

N1 Metástasis en un ganglio linfático

N2 Metástasis en más de un ganglio linfático

- Necrosis coagulativa tumoral: definida como la necrosis histológica del tejido tumoral que excluye cambios degenerativos como la autolisis, fibrosis, hemorragia o esclerosis (Figura 16 y 17). Se identifica histológicamente como masas amorfas eosinofílicas con la tinción de hematoxilina-eosina, en las cuales en ocasiones se pueden detectar las sombras de lo que fueron las células tumorales. Se valoró la ausencia o presencia de este tipo de necrosis y se cuantificó su presencia según el porcentaje del volumen tumoral afectado de acuerdo con la siguiente escala:

0 Ausencia de necrosis

1 Necrosis que afecta a menos del 25% del volumen tumoral

2 Necrosis que afecta a entre el 25 y el 50% del volumen tumoral

3 necrosis que afecta a entre el 51 y el 75% del volumen tumoral

4 Necrosis que afecta a más del 75% del volumen tumoral

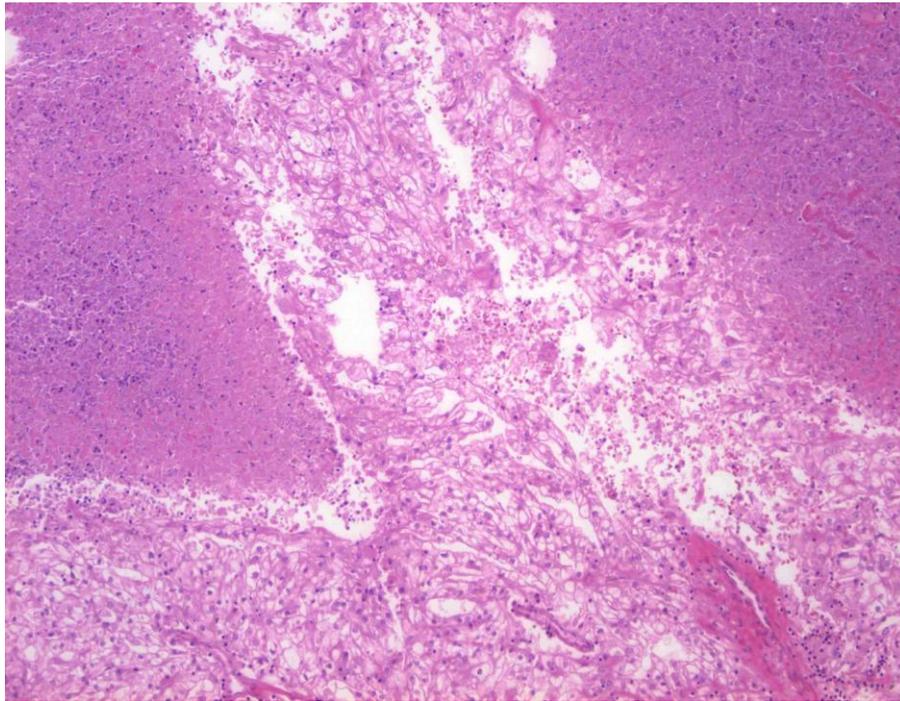


Figura 16. *Necrosis coagulativa tumoral (HE,10x).*

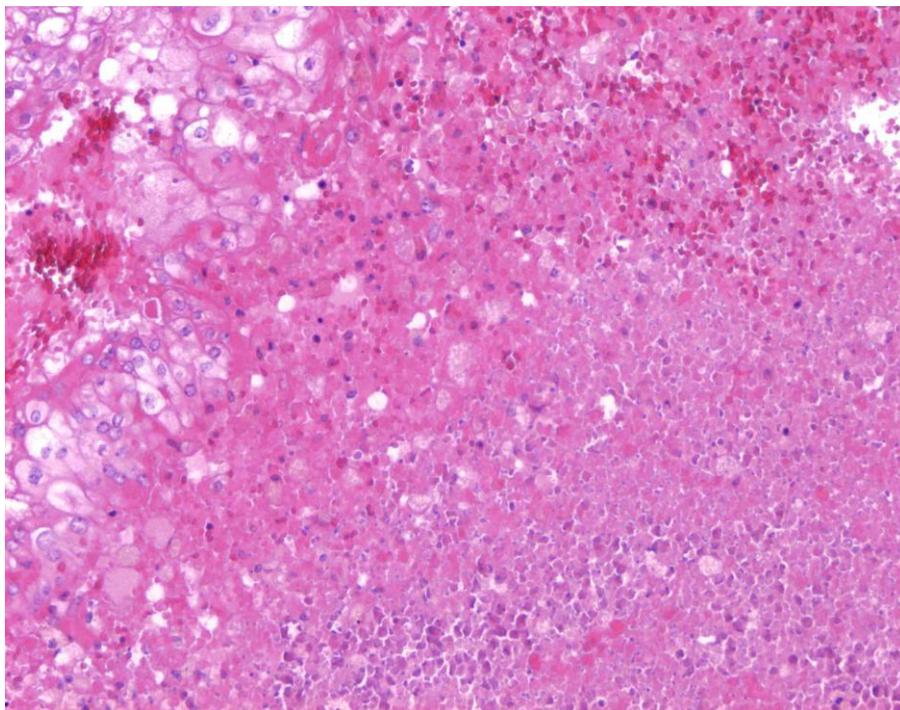


Figura 17. *Necrosis coagulativa tumoral (HE, 20x).*

- Infiltrado inflamatorio de células mononucleares intratumoral: Se revisaron las preparaciones histológicas teñidas con hematoxilina-eosina que

contenían la mayor cantidad de infiltrado inflamatorio de células mononucleares y se graduó su extensión según los criterios descritos por Webster¹⁶⁸ (Figura 18) en las siguientes categorías:

- 0 Ausencia de infiltrado inflamatorio mononuclear
- 1 Infiltrado inflamatorio mononuclear focal
- 2 Infiltrado inflamatorio mononuclear moderado
- 3 Infiltrado inflamatorio mononuclear intenso

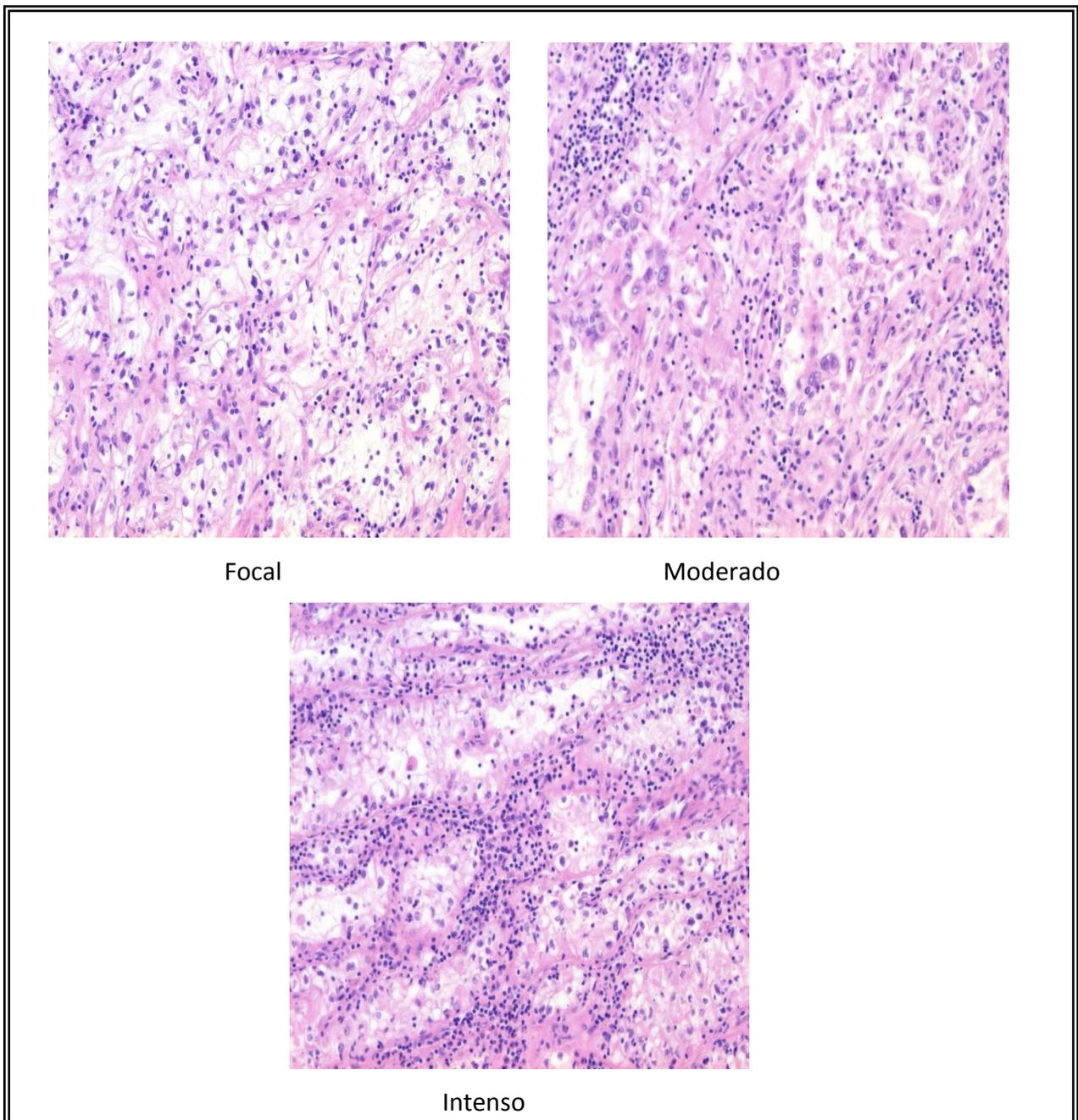


Figura 18. Extensión del infiltrado inflamatorio de células mononucleares (HE, 40x).

2.1.1. CONFECCIÓN DE LAS MICROMATRICES DE TEJIDO.

Después de la valoración de las variables histopatológicas se seleccionaron los bloques con las zonas del tejido tumoral más representativas y mejor conservadas (bloques donantes). Se marcaron dos puntos con un rotulador negro de punta gruesa en las preparaciones de HE correspondientes a cada bloque de cada tumor, para indicar los puntos de cada bloque de parafina donante de los que se deberían extraer los cilindros que serían posteriormente introducidos en el bloque de parafina receptor.

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). De esta manera se realizaron cuatro micromatrices de tejido, que contenían 296 cilindros de un milímetro de diámetro cada uno, representando el tejido neoplásico por duplicado de los 148 casos seleccionados. A partir de estos bloques se obtuvieron las secciones tisulares de 4 micras de espesor sobre las que se realizaron las técnicas de inmunohistoquímica (Figura 19).

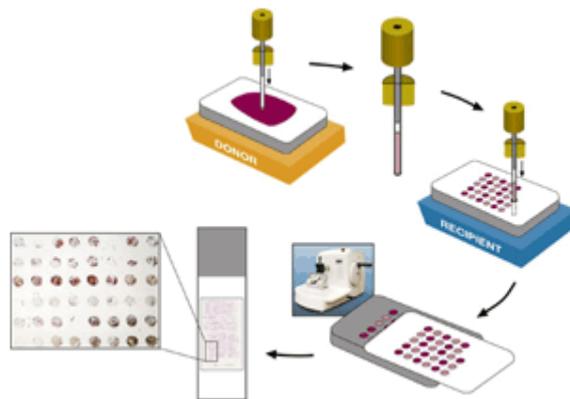


Figura 19. Esquema de confección de micromatrices de tejido.

2.2. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DE LA EXPRESIÓN PROTÉICA.

2.2.1. TÉCNICA INMUNOHISTOQUÍMICA.

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 (Tabla 12).

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).

Tabla 12. Anticuerpos para el estudio inmunohistoquímico.

- **Ki67** (Dako, clon MIB1, dil. : 1 :100)
- **p53** (Novocastra, clon DO-7, dil. 1:100)
- **MDM2** (Dako, clon IF2, dil. 1:10)
- **Bcl-2** (Dako, clon 124, dil. 1:50)
- **Survivina** (Abcam pcl, policlonal de conejo, dil. 1:400)

2.2.2. VALORACIÓN DE LA EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA.

La inmunotinción fue evaluada por el autor sin conocimiento de los datos clínicos ni del informe anatomopatológico.

Utilizando el microscopio óptico se procedió primero a poco aumento, a la localización de unos de los extremos de la matriz considerado de forma arbitraria como el punto de partida de la lectura. Los resultados se fueron anotando en las casillas correspondientes a cada caso, ordenadas de la misma manera que en las micromatrices de tejido en cuatro plantillas. A continuación, a mayor aumento, se procedió a evaluar la tinción inmunohistoquímica de cada una de las proteínas objeto de estudio.

2.2.2.1. Ki67.

Su localización y por tanto, la tinción a evaluar, es nuclear. Se realizó una valoración cuantitativa, considerando la tinción de los núcleos de cualquier grado de intensidad. A efectos de manejo estadístico, se estableció como punto de corte para considerar un determinado caso con alta proliferación, la tinción del 20% o más de los núcleos celulares, teniendo en cuenta la literatura al uso (Figura 20).

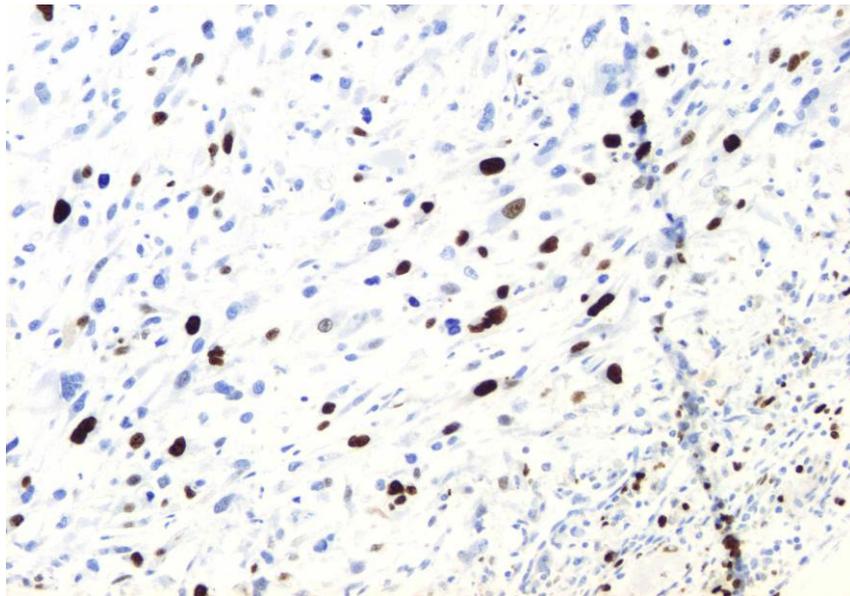


Figura 20. Tinción positiva para Ki67 (40x).

2.2.2.2. p53.

Se trata también de una proteína con localización nuclear. En condiciones normales la proteína p53 tiene una vida media muy corta y se elimina con rapidez, por lo que su detección no es posible. Sin embargo, cuando el gen de p53 sufre mutaciones, da lugar a una proteína anómala que no es degradada y se acumula por más tiempo, lo que hace posible su detección mediante inmunohistoquímica (Figura 21).

Se estableció como punto de corte para considerar un determinado caso positivo, la tinción del 10% o más de los núcleos.

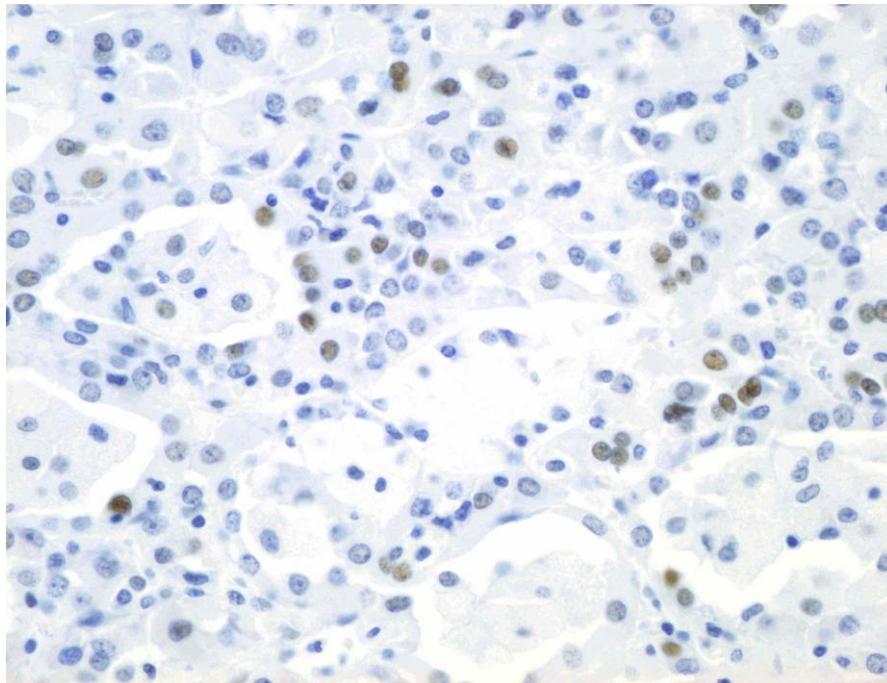


Figura 21. Tinción positiva para p53 (40x).

2.2.2.3. MDM-2.

Al igual que p53 también tiene localización nuclear, manteniendo además, estrechas relaciones funcionales con ella (Figura 22).

El punto de corte se estableció en el 5% o más de los núcleos con tinción para considerar un caso positivo.

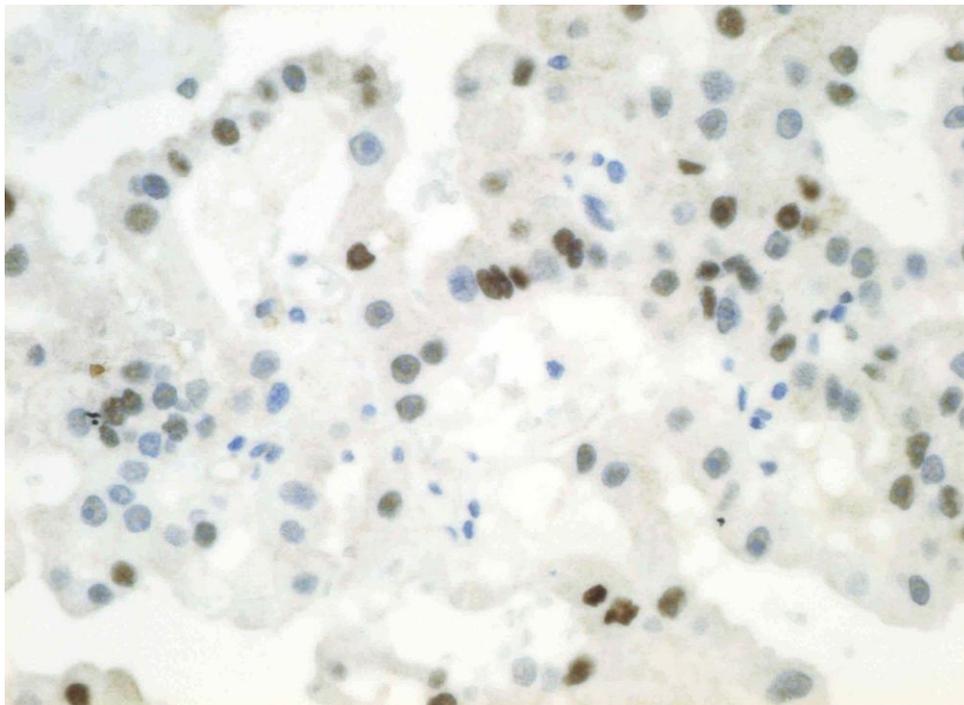


Figura 22. *Expresión nuclear positiva para MDM-2 (40x)*

2.2.2.4. Bcl-2.

Esta proteína tiene distribución citoplasmática. Al igual que con Ki67, no se realizó una valoración cuantitativa sino tan sólo cualitativa, considerándose como válida cualquier intensidad de tinción. El punto de corte se estableció en el 10% de células con tinción (Figura 23).

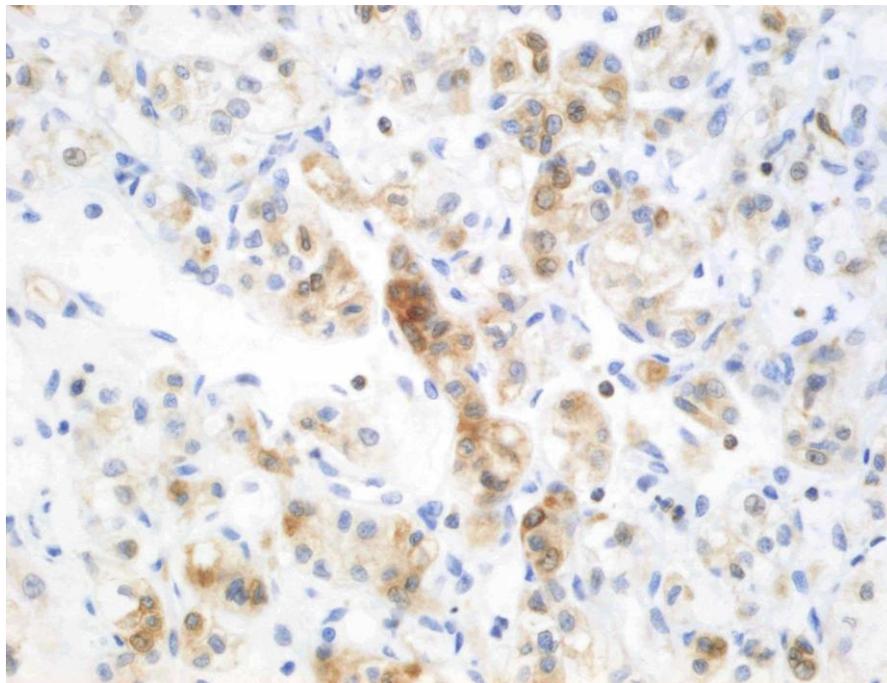


Figura 23. Tinción positiva para Bcl-2 (40x).

2.2.2.5. Survivina.

Su expresión fue evaluada en el citoplasma y en el núcleo. Se realizó una evaluación tanto cualitativa como cuantitativa.

Se graduó la intensidad de la tinción citoplasmática en dos apartados: 1. Inmunotinción negativa (ausente o débil) y 2. Inmunotinción positiva (moderada o fuerte) Teniendo en cuenta la literatura al uso se consideró como punto de corte para considerar como positiva la expresión de survivina, el hallazgo de un 10% o más de las células con tinción citoplasmática (Figura 24).

Se valoró la presencia o ausencia de tinción nuclear y se graduó en dos apartados: 1 Inmunotinción positiva en núcleo y 2. Inmunotinción negativa en núcleo. Al igual que en el citoplasma, se consideró como punto de corte para esta graduación el 10% de los núcleos con inmunotinción (Figura 25).

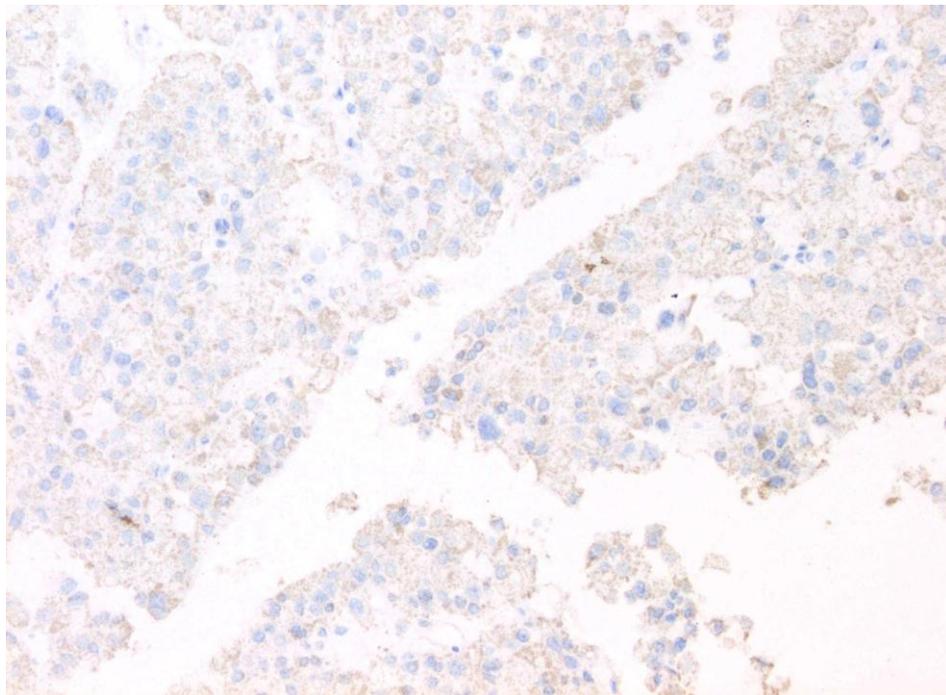


Figura 24. *Tinción citoplasmática débil para survivina (20x).*

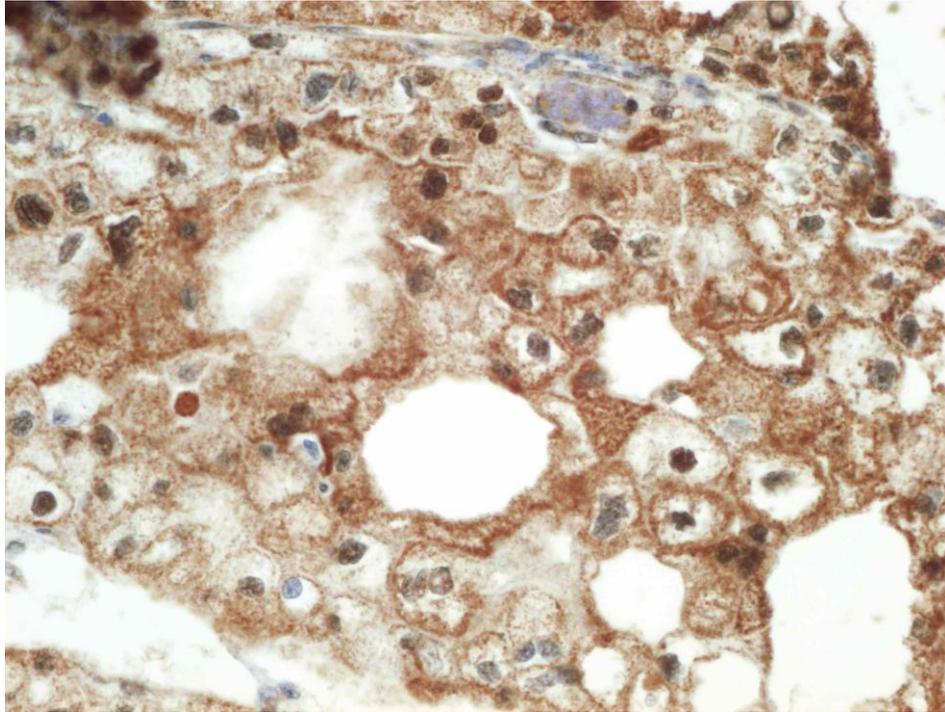


Figura 25. *Tinción nuclear y citoplasmática intensa para survivina (40x).*

2.3 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 recidivar) 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

IV. RESULTADOS.

1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO.

1.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA ANALIZADA.

1.1.1. TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Se trata de una serie de 148 pacientes diagnosticados de carcinoma de células renales, en el periodo comprendido entre 1993 y 2006, en el Hospital Universitario Príncipe de Asturias de Alcalá de Henares (Madrid).

1.1.2. EDAD.

La edad media de la serie fue de 58.88 años (rango de 23-83) con una desviación típica de 12,906.

1.1.3. SEXO.

De los 148 pacientes, 96 pertenecían al sexo masculino (64,9 %) y 52 al sexo femenino (35,1 %). La proporción hombre:mujer de la serie es de 1,8:1.

1.1.4. PRESENTACIÓN CLÍNICA.

En el momento del diagnóstico 64 pacientes presentaban sintomatología asociada (43,2%), mientras que en 84 pacientes el diagnóstico se realizó de forma incidental (56,8%) mediante pruebas de imagen realizadas por otra causa (principalmente metástasis). Entre los pacientes sintomáticos, 29 presentaron dolor, 36 hematuria, 12 masa palpable y 10 pérdida de peso. En cuanto a la presencia de alteraciones analíticas, 38 pacientes presentaban anemia, 10 poliglobulia, 10 hipercalcemia y 21 alteraciones de la función hepática.

1.1.5. LOCALIZACIÓN DEL TUMOR.

En 74 de los casos el tumor se encontraba localizado en el riñón derecho (50%) y en 72 casos en el riñón izquierdo (48%), mientras que en dos de los casos el tumor era bilateral (1,4%).

1.1.6. TIPO DE TRATAMIENTO QUIRÚRGICO.

En 122 de los casos la técnica quirúrgica realizada fue la nefrectomía radical (82,4%). En 13 casos se realizó nefrectomía parcial (8,8%) y en 12 casos tumorectomía (8,1%).

1.1.7. SEGUIMIENTO.

El tiempo medio de seguimiento para toda la muestra fue de 67,07 meses (S.E: 44,32) con una mediana de 64,90 y un rango de 3-165,60 meses.

1.2. PARÁMETROS ANATOMOPATOLÓGICOS.

1.2.1. TIPO HISTOLÓGICO.

Correspondían al subtipo histológico de células claras 109 tumores (73,6%). Entre los restantes, 21 correspondían al subtipo papilar (14,2%), 13 al subtipo cromóforo (8,8%) y 4 al subtipo quístico multilocular (2,7%) y uno fue considerado como inclasificable (0,7%). En la tabla se muestra la distribución (Tabla 13).

Tabla 13. Tipo histológico.

	Frecuencia	%	% acumulado
Cél. Claras	109	73,6	73,6
Papilar	21	14,2	87,8
Cromóforo	13	8,8	96,6
Quístico multilocular	4	2,7	99,3
No clasificable	1	0,7	100
	148	100	

1.2.2. GRADO NUCLEAR DE FUHRMAN.

Según la clasificación de Fuhrman para el grado nuclear, 19 de los tumores mostraban un **grado 1** (12,8%), 72 un **grado 2** (48,6%), 43 un **grado 3** (29,1%) y 14 un **grado 4** (9,5%) (Figura 26)(Tabla 14).

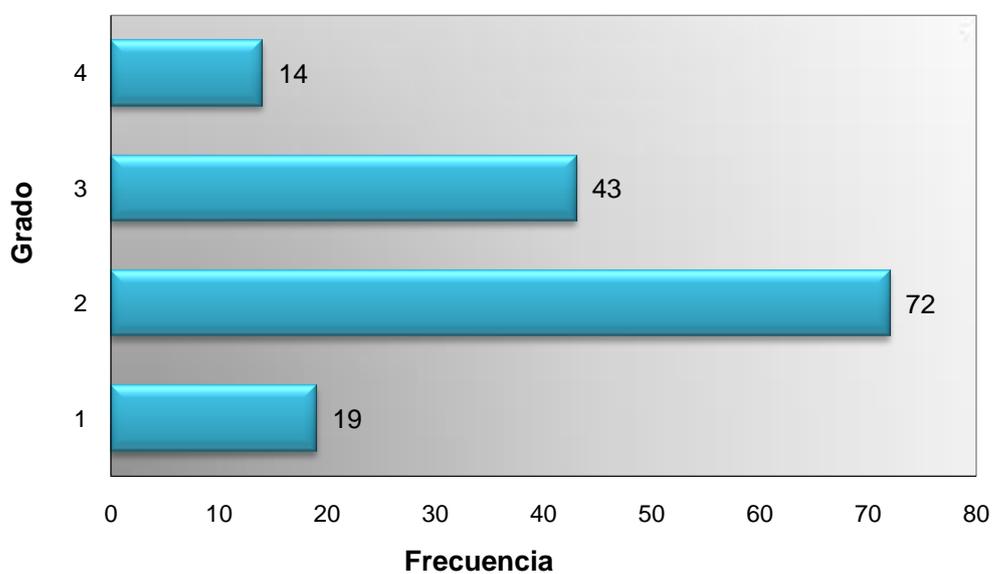


Figura 26. Distribución de la muestra según el grado nuclear.

Tabla 14. Grado nuclear.

	Frecuencia	%	% acumulado
Grado 1	19	12,8	12,8
Grado 2	72	48,6	61,5
Grado 3	43	29,1	90,5
Grado 4	14	9,5	100
	148	100	

1.2.3. ESTADIO TUMORAL.

En todos los casos, tras el estudio histológico, se determinó el estadio patológico tumoral. Según la clasificación TNM, en 96 de los 148 casos se trataba de un estadio organoconfinado (71,6%) (36 estadio T1a (24,3%), 41 estadio T1b (27,7%) y 29 estadio T2(19,6%)). Entre los restantes, 28 casos correspondían a un estadio T3a (18,9%) por afectación del tejido adiposo perirrenal, 10 casos se clasificaron como estadio T3b (6,8%) por afectación de la vena renal y 4 casos como T4 (Figura 27) (Tabla 15).

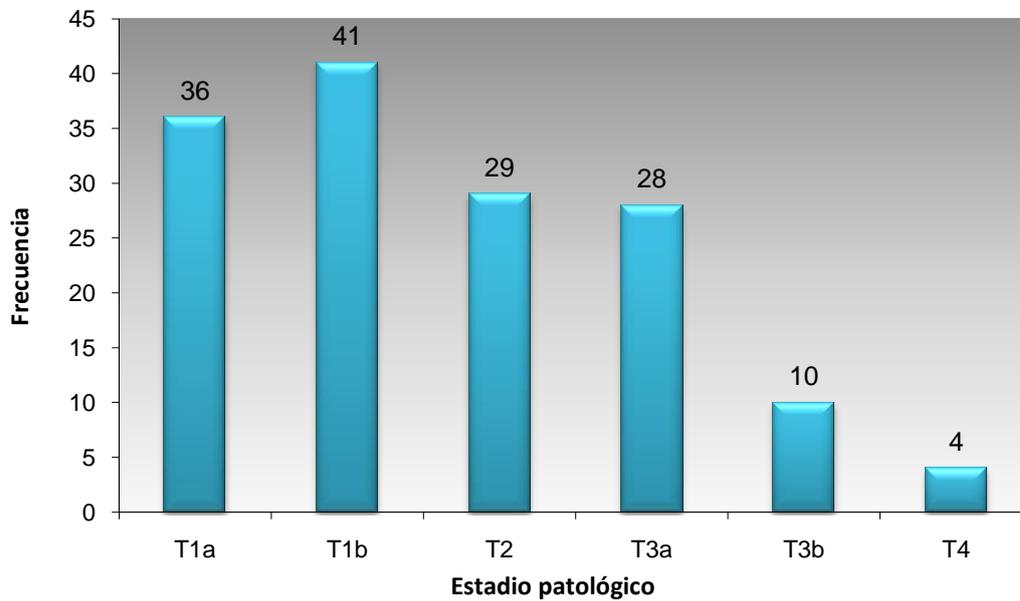


Figura 27. Distribución de la muestra según el estadio patológico.

Tabla 15. Estadio patológico (pT).

	Frecuencia	%	% acumulado
T1a	36	24,3	24,3
T1b	41	27,7	52,2
T2	29	19,6	71,6
T3a	28	18,9	90,5
T3b	10	6,8	97,3
T3c	0	0	97,3
T4	4	2,7	100
	148	100	

1.2.4. ESTADIO GANGLIONAR (PN).

En 139 (93,9%) pacientes no se detectaron metástasis ganglionares en el estudio postquirúrgico (pN0), mientras que en 5 pacientes (3,4%) se detectó un ganglio con metástasis (pN1) y en 4 cuatro pacientes (2,7%) se detectaron más de un ganglio con metástasis (pN2) (Tabla 16).

Tabla 16. Estadio ganglionar (pN)

	Frecuencia	%	% acumulado
pN0	139	93,9	93,9
pN1	5	3,4	97,3
pN2	4	2,7	100
	148	100	

1.2.5. NECROSIS HISTOLÓGICA.

En 48 de los 148 tumores (32,4%) se observó la presencia de necrosis coagulativa tumoral en el examen histológico, con una proporción variable respecto al volumen tumoral total: En 21 casos afectaba entre 0 y el 25%, en 19 casos entre 26 y 50%, en 6 casos entre 51 y 75% y en 2 casos entre 76 y el 100% del volumen tumoral (Figura 28) (Tabla 17).

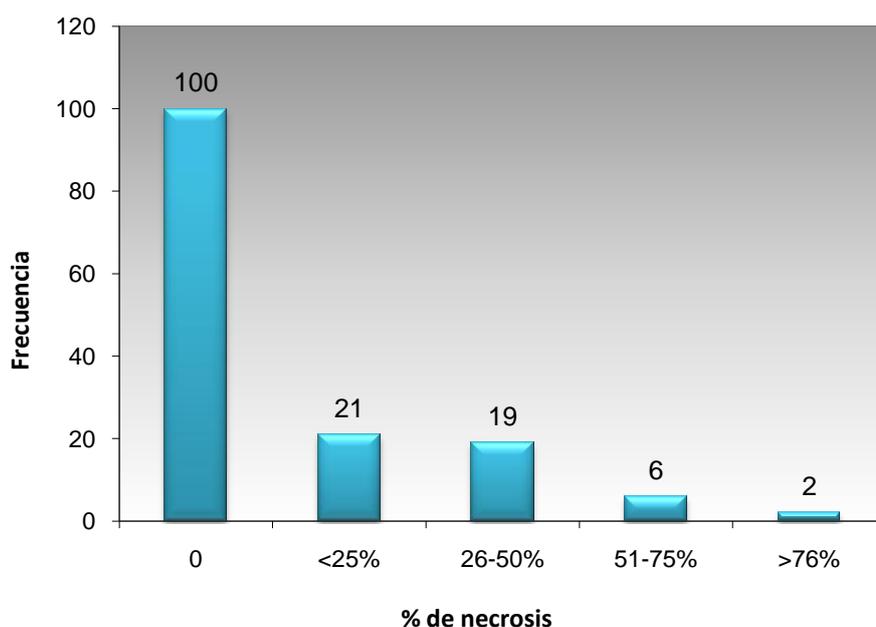


Figura 28. Distribución de la muestra según la extensión de la necrosis coagulativa tumoral.

Tabla 17. Necrosis coagulativa tumoral.

	Frecuencia	%	% acumulado
Ausente	100	67,6	67,6
<25%	21	14,2	81,8
26-50%	19	12,8	94,6
51-75%>	6	4,1	98,7
>75%	2	1,4	
	148	100	

1.2.6. INFILTRADO INFLAMATORIO DE CÉLULAS MONONUCLEARES.

En 54 de los 148 tumores (36,5%) no se objetivó la presencia de un infiltrado inflamatorio de células mononucleares. Entre los que sí se objetivó, en 48 casos se clasificó como focal (32,4%), en 33 casos como moderado (22,3%) y en 13 casos como intenso (8,8%), de acuerdo a los criterios previamente descritos (Figura 29) (Tabla 18).

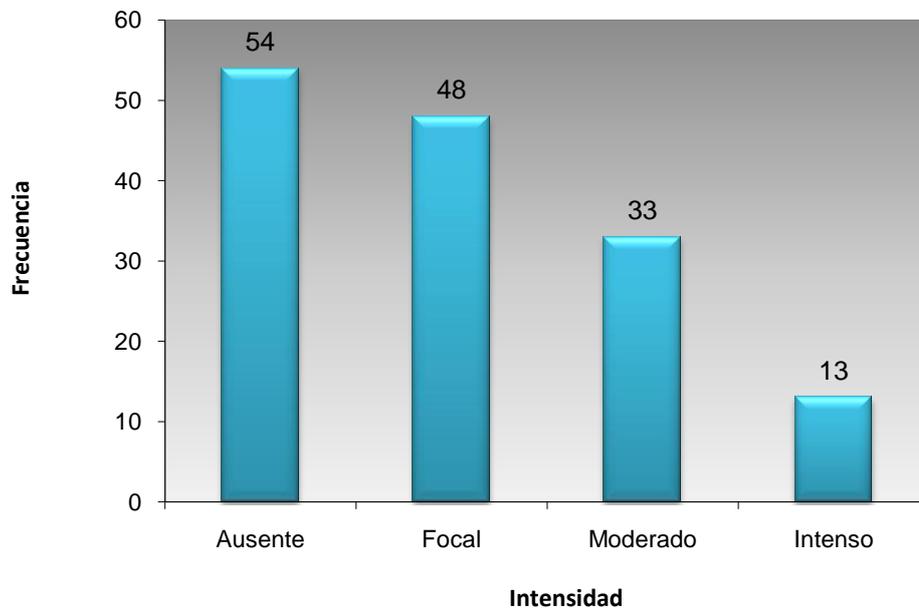


Figura 29. Distribución de la muestra según el Infiltrado inflamatorio mononuclear.

Tabla 18. Infiltrado inflamatorio mononuclear.

	Frecuencia	%	% acumulado
Ausente	54	36,5	36,5
Focal	48	32,4	68,9
Moderado	33	22,3	91,2
Intenso	13	8,8	100
	148	100	

1.3. PARÁMETROS INMUNOHISTOQUÍMICOS.

1.3.1. INMUNOEXPRESIÓN DE KI67.

Estableciendo el punto de corte en el 20% se identificaron 127 casos con disminución de proliferación (85,8%), y 11 casos aumento de proliferación (7,4%). En 10 casos la valoración no fue posible por escasez o ausencia de tumor (6,8%). En los casos valorados se observó una proporción de núcleos teñidos variable, entre 0% y 48% (Tabla 19).

Tabla 19. Inmunoexpresión de Ki67.

	Frecuencia	%	% acumulado	% acumulado
Positivo	127	85,8	92	92
Negativo	11	7,4	8	100
Total	138	93,2	100	
	148	100		

1.3.2. INMUNOEXPRESIÓN DE P53.

La valoración de la inmunoexpresión de p53 fue posible en 138 casos. Se desestimaron los 10 restantes por considerarse su valoración poco fiable por escasez o ausencia de tumor o por desprendimiento de la muestra (6,8%). Estableciendo el punto de corte en el 10% se identificaron 24 casos con sobreexpresión (16,2%) y 114 casos con tinción negativa (77%) (Tabla 20).

Tabla 20. Inmunoexpresión de p53.

	Frecuencia	%	% acumulado	% acumulado
Positivo	24	16,2	17,4	17,4
Negativo	114	77	82,6	100
Total	138	93,2	100	
	148	100		

1.3.3. INMUNOEXPRESIÓN DE MDM-2.

La valoración de la inmunoexpresión de Mdm-2 se pudo realizar en 133 casos. En 15 casos no fue posible la valoración por escasez o ausencia de tumor en las muestras o por desprendimiento de la muestra (10,1%). Estableciendo el punto de corte en el 10% se identificaron 31 casos positivos (20,9%) y 102 casos negativos (68,9%) (Tabla 21).

Tabla 21. Inmunoexpresión de MDM-2.

	Frecuencia	%	% acumulado	% acumulado
Positivo	31	20,9	23,3	23,3
Negativo	102	68,9	76,7	100
Total	133	89,9	100	
	148	100		

1.3.4. INMUNOEXPRESIÓN DE BCL-2.

La valoración de la inmunoexpresión de bcl-2 se pudo realizar en 138 casos. En 10 casos la valoración no fue posible por escasez o ausencia de tumor o por desprendimiento de la muestra (6.8%). Estableciendo el punto de corte en el 10%, se identificaron 39 casos con tinción positiva (26,4%) y 99 casos con tinción negativa (66,9%) (Tabla 22).

Tabla 22. Inmunoexpresión de Bcl-2.

	Frecuencia	%	% acumulado	% acumulado
Positivo	39	26,4	28,3	28,3
Negativo	99	66,9	71,7	100
Total	138	93,2	100	
	148	100		

1.3.5. INMUNOEXPRESIÓN DE SURVIVINA.

Se valoró cualitativamente la expresión de survivina en el citoplasma y en el núcleo de las células tumorales. En la valoración de la expresión citoplasmática se identificaron 20 casos con inmunotinción débil (13,5%), 55 casos con inmunotinción moderada (37,2%) y 59 casos con inmunotinción intensa (39,9%). En 4 casos no se observó inmunotinción (2,7%). En 9 casos la valoración no fue posible debido a escasez o ausencia de tumor en los cortes histológicos (6,1%)(Tabla 23). Dados los resultados obtenidos se reagruparon los datos con el fin de mejorar la potencia estadística y se obtuvieron tienen dos grupos con la siguiente distribución: 24 casos con inmunotinción negativa (ausencia de inmunotinción o inmunotinción débil) (16,2%) y 114 casos con inmunotinción positiva (inmunotinción moderada o intensa) (77,1%) (Tabla 24).

En la valoración de la expresión nuclear, se identificaron 78 casos con inmunotinción nuclear positiva (52,7%) y 60 casos con inmunotinción nuclear negativa (40,5%). En 9 casos no se pudo realizar la valoración por escasez o ausencia de tumor en las muestras (6,1%)(Tabla 25)

Tabla 23. Inmunoexpresión de survivina en citoplasma según la intensidad.

	Frecuencia	%	% acumulado	% acumulado
Negativo	4	2,7	2,9	2,9
Débil	20	13,5	14,5	17,4
Moderada	55	37,2	39,9	57,2
Intensa	59	39,9	42,8	100
Total	138	93,2	100	
	148	100		

Tabla 24. Inmunoexpresión de survivina en citoplasma según la intensidad, tras reagrupación.

	Frecuencia	%	% acumulado	% acumulado
Negativo (Negativa/Débil)	24	16,2	17,4	17,4
Positivo (Moderada/Intensa)	114	77,1	82,6	100
Total	138	93,2	100	
	148	100		

Tabla 25. Inmunoexpresión de survivina en el núcleo.

	Frecuencia	%	% acumulado	% acumulado
Negativo	60	40,5	43,5	43,5
Positivo	78	52,7	56,5	100
Total	138	93,2	100	
	148	100		

2. ESTADÍSTICA ANALÍTICA.

2.1. SUPERVIVENCIA DE LA SERIE.

Se calculó la supervivencia en nuestra serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, y se obtuvieron unos porcentajes de supervivencia del 95,8%, 88,5%, 83,8% y 78,4%, respectivamente. Estos resultados se exponen en la tabla 26. Para el cálculo de la supervivencia se consideraron dos pacientes que fueron intervenidos en estadio M1 con cirugía de las metástasis. Sin embargo, estos dos pacientes no serán considerados en el cálculo de los intervalos libres de enfermedad.

Tabla 26. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses.

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

A continuación se calcularon las probabilidades de supervivencia de la serie en función de las distintas variables clínicas y anatomopatológicas y de la expresión inmunohistoquímica de los marcadores estudiados, mediante un análisis univariante de las mismas.

2.1.1. SUPERVIVENCIA SEGÚN LAS VARIABLES CLÍNICO-PATOLÓGICAS.

2.1.1.1. Edad.

Se observó una diferencia significativa en la supervivencia en función de la edad en nuestra serie, siendo mayor la supervivencia en los pacientes menores de 60 años ($p=0,04$)(Tabla 27).

Tabla 27. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la edad.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
EDAD						
≥0= 60 años	60 97%(2,1)	59 87,5%(4,1)	43 80.7%(5)	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)	32 84,6%(4,3)		1

2.1.1.2. Sexo.

No se encontraron diferencias significativas en la supervivencia entre los hombres y mujeres que forman parte de nuestra serie ($p=0,94$) (Tabla 28)

Tabla 28. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses según el sexo.

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

2.1.1.3. Diagnóstico sintomático o incidental.

Se observó una tendencia a una mayor supervivencia en los pacientes que presentaban síntomas en el momento del diagnóstico respecto a aquellos cuyo diagnóstico se realizó de manera incidental, aunque este comportamiento no llega a tener significación estadística ($p=0,053$)(Tabla 29).

Tabla 29 . Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de síntomas en el momento del diagnóstico.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
SINTOMAS EN EL DIAGNOSTICO						
Sintomático	58 95,2%(2,7)	49 86,9%(4,3)	39 78%(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

2.1.1.4. Estadio pT.

Se observó una diferencia significativa en la supervivencia de los pacientes de nuestra serie en función del estadio patológico determinado según la clasificación TNM, cuando se agrupaban las categorías con comportamientos similares (Tabla 30 y 31).

Tabla 30 . Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pT.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
pT						
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)	20 85,2%(6,8)	15 80,9%(7,7)	11 69,%(10)	0,88	63146,97 Indeter.
T3a	25 96,4%(3,5)	20 85,2%(6,8)	15 73,3%(8,75)	13 73,3%(8,7)	0,88	87172,02 Indeter.
T3b	10 100%	7 7,8%(13,9)	5 55,6%(16,6)	2 33,3%(15,7)	0,87	223996,12 Indeter.
T4	1 33,%(27,2)	1 33,3%(27,2)	0 0%	(-)	0,86	682998,59 Indeter.

Tabla 31. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pT reagrupado.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
ESTADIO pT						
T1	77 100%	70 97,3%(1,9)	55 95,8%(2,4)	30 93,5%(3,2)		1
T2	24 8,9%(6)	20 85,2%(6,8)	15 80,9%(7,7)	11 69,4%(10)	0,006	5,66 (1,66-19,38)
T3a	25 96,4%(3,5)	20 85,2%(6,8)	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%(12,5)	<0,001	25,06 (7,77-80,77)

2.1.1.5. Estadio pN.

Desde el punto de vista clínico, el estadio pN inicial de todos los pacientes incluidos en el estudio era N0, sin embargo, en nueve de ellos se detectó afectación ganglionar en el estudio histológico tras la cirugía por lo que fueron clasificados como pN1 o pN2.

Se observaron diferencias significativas en la supervivencia de los pacientes pN2 respecto a los pN0 (HR= 8,27, p=0,001) pero no era así con los pN1 (HR=1,14, p=0,9) (Tabla 32).

Tabla 32. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pN.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
ESTADIO pN						
pN0	129 97,8%(1,3)	114 90,8%(2,5)	86 85,8%(3,1)	52 80%(3,9)		1
pN1	3 75%(21,7)	3 75%(21,7)	3 75%(21,7)	3 75%(21,7)	0,9	1,14 (0,15-8,44)
pN2	2 50%(25)	1 25%(21,7)	1 25%(21,7)	1 25%(21,7)	0,001	8,27 (2,47-27,71)

2.1.1.6. Tipo Histológico.

No se observaron diferencias significativas en la supervivencia de nuestra serie en función del tipo histológico de CCR. Sí se observó una tendencia en los

tumores papilares a tener una probabilidad menor de supervivencia a los 72 meses, aunque sin llegar a tener significación estadística. El resto de los tipos histológicos mostraron una supervivencia similar al de células claras (Tabla 33).

Tabla 33. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el tipo histológico.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
TIPO HISTOLÓGICO						
Células claras	99 96,2%(1,8)	86 87,4%(3,3)	67 82%(3,8)	46 79%(4,3)		1
Papilar	20 90,9%(61)	18 86,4%(7,3)	12 81,3%(85)	3 55,4%(14,1)	0,09	2,03 (0,9-4,56)
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

2.1.1.7. Grado Nuclear.

Las probabilidades de supervivencia, estratificándose según el grado, quedan reflejadas en la tabla 34.

Tabla 34. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el grado nuclear.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
GRADO NUCLEAR						
1	19 100%(-)	19 94,4%(5,4)	12 94,4%(5,4)	7 94,4%(5,4)		1
2	67 97,2%(2)	65 97,2%(2)	53 95,6%(2,5)	33 91,2%(3,9)	0,9	9902,94 Indeterminado
3	40 97,6%(2,4)	29 80%(6,4)	20 65,6%(7,8)	14 58,5%(8,4)	0,89	52393,93 Indeterminado
4	8 74,1%(12,9)	5 46,3%(15)	5 46,3%(15)	2 37,07%(14,6)	0,88	105692,15 Indeterminado

Si se reagrupaban los tumores en dos categorías según fueran de bajo grado (grados 1 y 2) o de alto grado (grados 3 y 4), se observó que la supervivencia era menor para los pacientes con tumores de alto grado comparada con los de bajo grado (HR=7,76; p<0,001) (Tabla 35).

Tabla 35. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el grado nuclear reagrupado en “bajo grado” y “alto grado”.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
GRADO NUCLEAR						
Bajo grado	86 97,8%(1,6)	84 97,8%(1,6)	65 96,5%(2)	40 92,7%(3,3)		1
Alto grado	48 92,6%(3,6)	34 72,7%(6,21)	25 61,6%(7)	16 53,5%(7,5)	<0,001	7,73 (3,32-18)

2.1.1.8. Necrosis Coagulativa Tumoral.

Encontramos un peor comportamiento en cuanto a supervivencia en aquellos tumores con presencia de necrosis coagulativa tumoral respecto a los que no la presentaban, con significación estadística ($p < 0,001$) (Tabla 36) (Figura 30). Además, la supervivencia era peor en nuestra serie, cuanto mayor era la extensión de la necrosis observada, valorada como porcentaje estimado del volumen tumoral ($p < 0,001$) (Tabla 37) (Figura 31).

Tabla 36. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de necrosis coagulativa tumoral.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
NECROSIS TUMORAL						
Presente	38 88,9%(4,7)	28 69,7%(7,1)	19 59,6%(7,6)	11 52%(8,4)	<0,001	1,23 (3,05-13,91)
Ausente	96 99%(1)	90 96,9%(1,8)	71 94,6%(2,4)	45 89,9%(3,5)		1

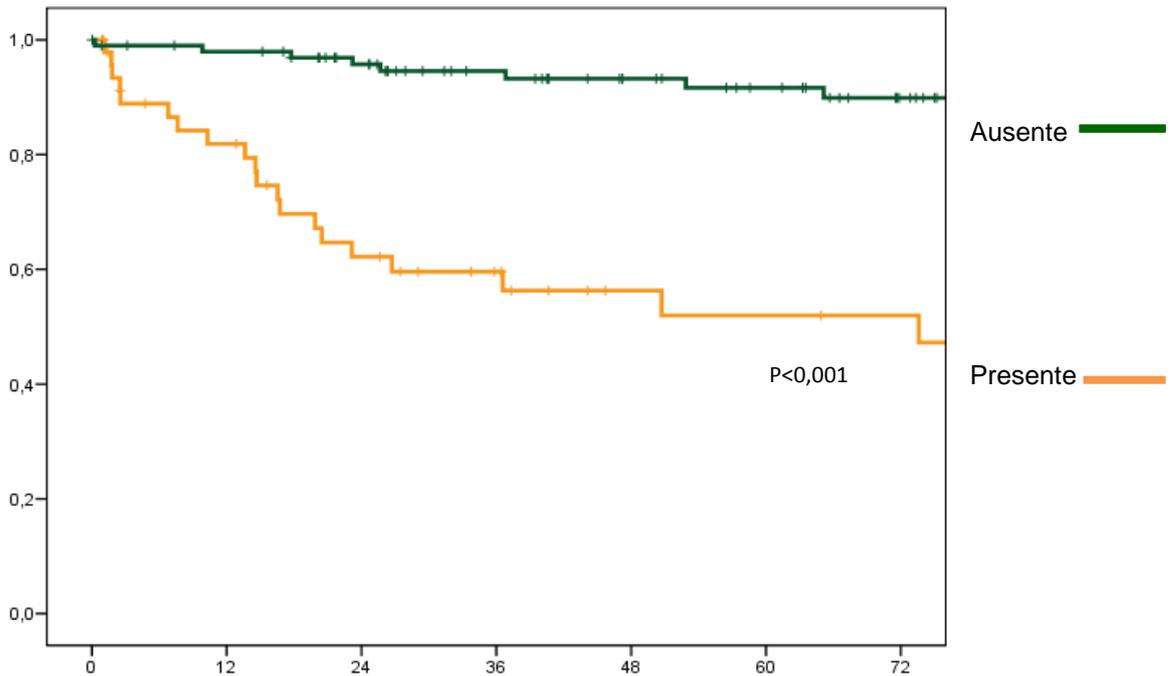


Figura 30. Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia según presencia o ausencia de necrosis coagulativa tumoral.

Tabla 37. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de necrosis coagulativa tumoral y según su extensión.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
NECROSIS TUMORAL %						
Ausente	96 99%(1)	90 96,9%(1,8)	71 94,6%(2,4)	45 89,9%(3,5)		1
<25%	16 89,5%(7)	12 72,3%(10,6)	9 72,3%(10,6)	4 72,3%(10,6)	0,019	3,62 (1,23-10,62)
25-50%	15 88,9%(7,4)	11 70,2%(11,3)	6 44,7%(12,4)	5 37,2%(12,4)	<0,001	8,8 (3,72-20,83)
>50%	7 87,5%(11,7)	5 62,5%(17,1)	4 62,5%(17,1)	2 41,7%(20,5)	<0,001	8,54 (2,90-25,11)

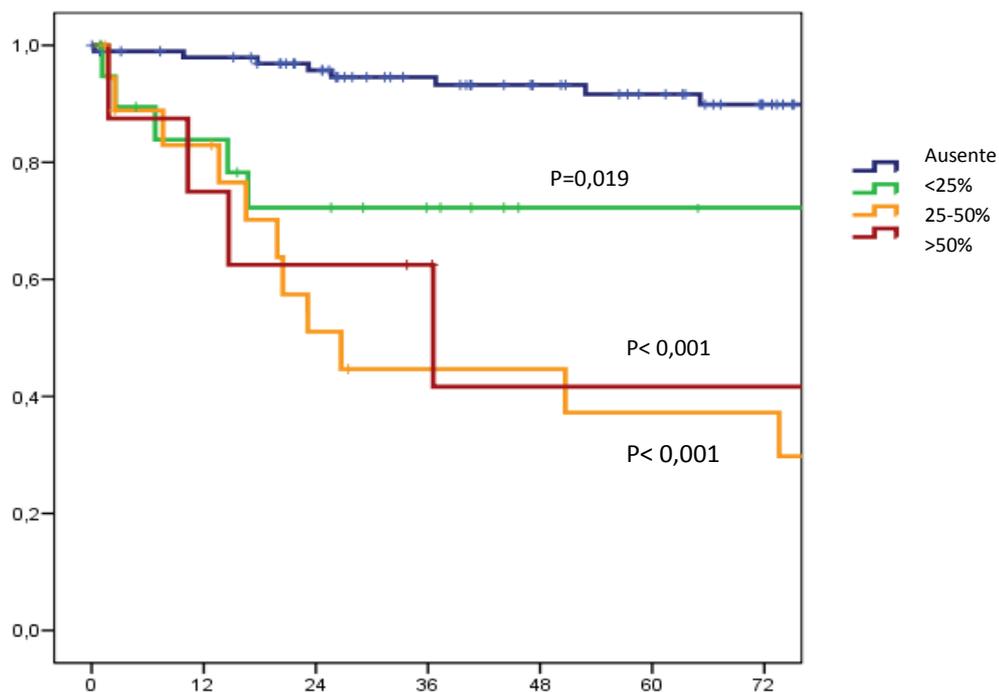


Figura 31. Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia según la extensión de la necrosis coagulativa tumoral.

2.2.1.9. Infiltrado inflamatorio de células mononucleares.

Se valoró el efecto que podría tener en la supervivencia de los pacientes de nuestra serie la presencia de un infiltrado inflamatorio de células mononucleares intratumoral y su intensidad.

Se observó un comportamiento diferente en los distintos grupos, con significación estadística. La supervivencia era peor en los tumores con infiltrado de células mononucleares y dentro de este grupo, en aquellos con mayor intensidad del infiltrado (Tablas 38 y 39) (Figura 32).

Tabla 38. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de infiltrado de células mononucleares y según su extensión.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
INFILTRADO DE CELULAS MONONUCLEARES						
Ausente	49 98%(1,9)	45 96%(2,8)	36 96%(2,8)	19 92,7%(4,2)		1
Focal	45 95,8%(2,9)	40 91,5%(4,1)	30 86,6%(5,1)	22 80,3%(6,4)	0,031	4,08 (1,14-14,65)
Moderado	28 90,8%(5,1)	11 70,2%(11,3)	17 61%(8,9)	12 57,4%(9)	0,001	8,49 (2,44-29,60)
Intenso	13 100%(-)	5 62,5%(17,1)	7 83,3%(10,8)	3 62,5%(19,8)	0,062	4,61 (0,93-22,88)

Tabla 39. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de infiltrado de células mononucleares y según su extensión, reagrupado.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
INFILTRADO DE CELULAS MONONUCLEARES						
Ausente	49 98%(1,9)	45 96%(2,8)	36 96%(2,8)	19 92,7%(4,2)		1
Focal	45 95,8%(2,9)	40 91,5%(4,1)	30 86,6%(5,1)	22 80,3%(6,4)	0,031	4,09 (1,14-14,66)
Moderado-intenso	40 93,3%(3,7)	33 77%(6,4)	24 67,2%(7,2)	15 60,3%(8)	0,001	7,39 (2,16-25,24)

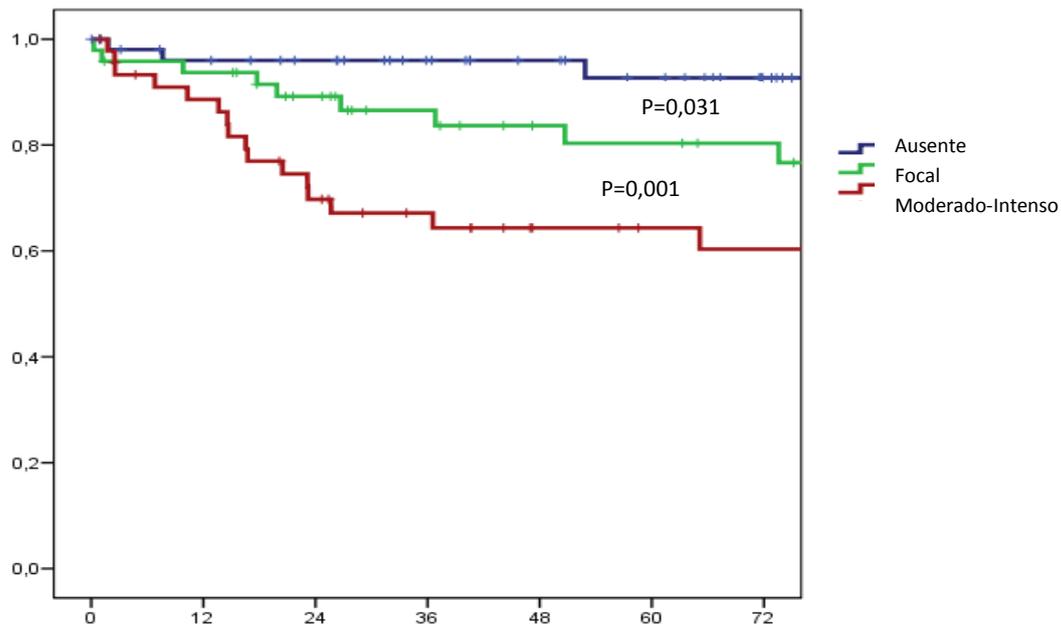


Figura 32. Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia según la extensión del infiltrado inflamatorio de células mononucleares.

2.2. SUPERVIVENCIA SEGÚN LAS VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS.

2.2.1. KI67.

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia del grupo de pacientes cuyos tumores expresaban Ki67 en el 20% o más de los núcleos, respecto a la supervivencia de los pacientes cuyos tumores expresaban este marcador en menos del 20% de los núcleos ($p=0,001$) (Tabla 40) (Figura 33).

Tabla 40. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de Ki67.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
Ki67						
Baja proliferación (<20%)	115 95,9%(1,8)	102 90%(2,7)	80 85,4%(3,3)	51 80,6%(3,9)		1
Alta proliferación (>ó=20%)	9 90,9%(8,7)	6 60,6%(15,6)	3 45,5%(17,5)	0 22,7%(18,3)	0,001	4,91 (1,96-12,29)

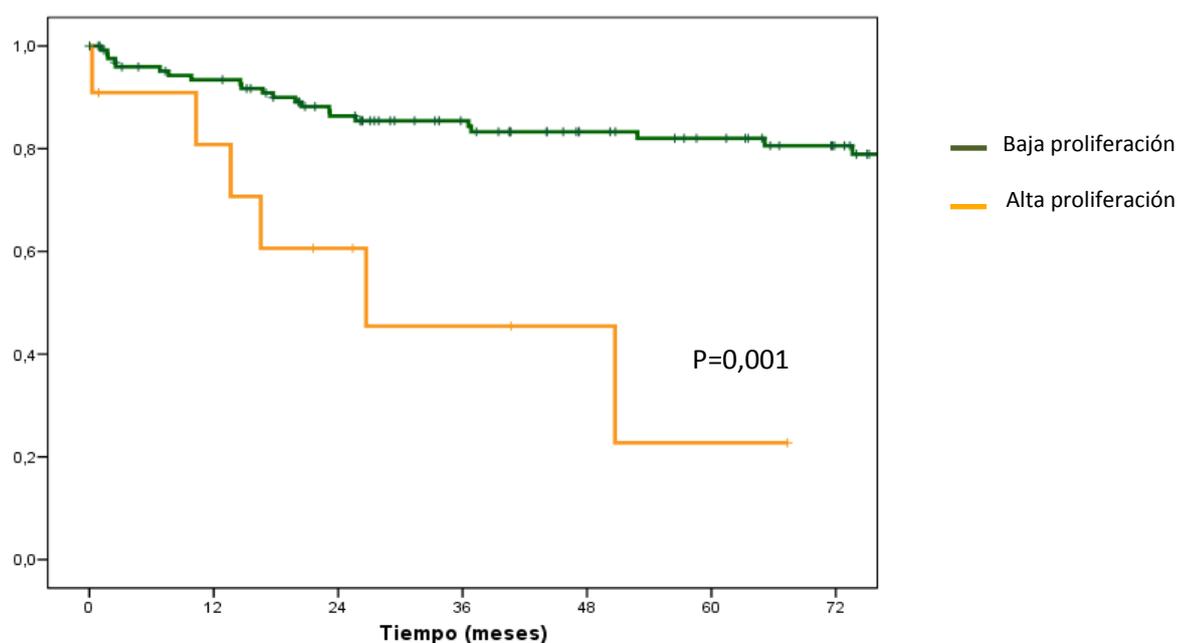


Figura 33. Curvas de Kaplan-Meier para la supervivencia según la expresión de Ki67.

2.2.2. p53.

No se observaron diferencias en la supervivencia de nuestra serie en función de la expresión positiva o negativa de p53 ($p=0,671$)(Tabla 41).

Tabla 41. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de p53 .

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
p53						
Negativo (<10%)	102 95,5%(2)	88 86,9%(3,3)	69 82,7%(3,7)	45 78,5%(4,3)		1
Positivo (≥10%)	22 95,7%(4,3)	20 91,3%(5,9)	14 81,4%(8,4)	6 68%(11,3)	0,671	0,82 (0,34-2,01)

2.2.3. MDM2.

La supervivencia en nuestra serie no mostraba diferencias en función de la expresión de MDM-2 ($p=0,966$) (Tabla 42)

Tabla 42. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de MDM-2.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
MDM-2						
Negativo (<10%)	102 95,5%(2)	88 86,9%(3,3)	69 82,7%(3,7)	45 78,5%(4,3)		1
Positivo (≥10%)	22 95,7%(4,3)	20 91,3%(5,9)	14 81,4%(8,4)	6 68%(11,3)	0,966	0,82 (0,34-2,01)

2.2.4. BCL-2.

No se observaron diferencias en la supervivencia de nuestra serie en función de la expresión positiva o negativa de bcl-2 ($p=0,742$) (Tabla 43)

Tabla 43. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de Bcl-2.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
Bcl-2						
Negativo	35 92,4%(4,4)	31 89,3%(5,1)	26 89,3%(5,1)	14 82%(6,8)		1
Positivo	89 96,9%(1,8)	77 87%(3,5)	57 79,9%(4,2)	37 74,9%(4,9)	0,742	1,15 (0,51-2,56)

2.2.5. SURVIVINA.

- Survivina citoplasmática.

En primer lugar se estratificó la serie en cuatro grupos según la expresión de survivina en el citoplasma de las células tumorales y la intensidad de inmunotinción (negativo, débil, moderada e intensa) y se relacionó con la evolución de los pacientes evaluando los intervalos libres de enfermedad para cada grupo en cada punto de corte en el tiempo. Aunque la probabilidad de no recidiva a los 72 meses era diferente en los distintos grupos, con porcentajes mayores para los tumores que no mostraban inmunotinción o con inmunotinción débil, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el riesgo de recidiva tumoral (Tabla 44).

Tabla 44. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión citoplasmática de Survivina.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
SURVIVINA CITOPLASMÁTICO						
Negativo	4 100%(-)	4 100%(-)	4 100%(-)	4 100%(-)		1
Débil	20 100%(-)	19 95%(4,9)	14 84,7%(8,1)	12 84,7%(8,1)	0,922	
Moderada	49 96,3%(2,6)	42 84,5%(5)	37 82,4%(5,3)	23 77%(6,3)	0,914	
Intensa	52 94,7%(3)	44 89%(4,3)	27 82,2%(5,5)	15 75,2%(6,9)	0,915	

Para intentar aumentar la potencia estadística del estudio se estratificó la serie en dos grupos según la expresión citoplasmática de survivina negativa/débil o moderada/intensa, y se relacionó con la supervivencia. No se observaron

tampoco de este modo diferencias significativas en la supervivencia entre los dos grupos, con unos porcentajes de supervivencia de 87,3% y 76,5% a los 72 meses de evolución, respectivamente (Tabla 45).

Tabla 45. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión citoplasmática de Survivina, reagrupado .

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
SURVIVINA CITOPLASMÁTICA						
Negativa/débil	24 100%(-)	23 95,8%(4,1)	18 87,3%(6,9)	15 87,3%(6,9)		1
Moderada/intensa	101 95,4%(2)	86 86,7%(3,3)	64 82,4%(3,8)	38 76,5%(4,6)	0,121	2,61 (0,78-8,76)

- Survivina nuclear.

Tampoco se observaron diferencias significativas en la supervivencia de los pacientes de la serie al comparar aquellos cuyos tumores expresaban survivina en el núcleo con los que no la expresan (Tabla 46).

Tabla 46. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión nuclear de Survivina.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
SURVIVINA NUCLEAR						
Negativo	56 96,6%(2,4)	50 87,9%(4,3)	41 80,8%(5,2)	32 76,7%(5,7)		1
Positivo	69 96%(2,3)	59 88,9%(3,7)	41 85,4%(4,3)	21 80,1%(5,5)	0,307	1,48 (0,7-3,11)

2.3. SUPERVIVENCIA LIBRE DE ENFERMEDAD.

Se excluyeron para el cálculo de los intervalos libres de enfermedad aquellos pacientes con tumores diagnosticados en estadio M1, ya que se supuso que estos no se encontraban libres de tumor en ningún momento mientras duraba el estudio. Por

tanto, la muestra quedó constituida por 146 tumores para estudio de la supervivencia libre de enfermedad.

2.3.1. RECIDIVA TUMORAL SEGÚN LAS VARIABLES CLINICOPATOLÓGICAS.

2.3.1.1. Recidiva tumoral y edad.

Se dividieron los pacientes de la serie en dos grupos según su edad tomando como punto de corte los 60 años. Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la probabilidad de recidiva tumoral entre ambos grupos de tal forma que los pacientes mayores de 60 años mostraban una peor evolución con mayor riesgo de recidiva del tumor ($p=0,01$) (Tabla 47).

Tabla 47. Supervivencia libre de enfermedad a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la edad.

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

2.3.1.2. Recidiva tumoral y sexo.

El comportamiento en cuanto a probabilidad de recidiva tumoral en nuestra serie de pacientes era muy similar si comparabamos el grupo de pacientes hombres con el de las mujeres, en todos los puntos de corte en el tiempo (Tabla 48).

Tabla 48. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses según el sexo.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
SEXO						
Hombre	81 93,3%(2,6)	66 80,4%(4,3)	49 77,8% (4,5)	27 65,4% (6)		1
Mujer	41 85,6% (5)	35 77,1%(6,1)	27 72% (6,7)	19 65,7%(7,4)	0,94	1,03 (0,55-1,92)

2.3.1.3. **Recidiva tumoral y presentación clínica.**

En nuestra serie no se observaron diferencias en la probabilidad de recidiva tumoral entre los pacientes cuyo diagnóstico se realizó de manera incidental y aquellos que presentaban sintomatología en el momento del diagnóstico (Tabla 49).

Tabla 49. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la clínica en el momento del diagnóstico.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
CLINICA EN EL DIAGNOSTICO						
Sintomático	50 90,4%(3,7)	41 68,3%(6)	33 66,4%(6,2)	23 55,6%(7,1)	0,40	1,30 (0,7-2,38)
Incidental	72 94,9%(2,5)	60 81,5%(4,5)	43 79,7%(4,7)	23 65,7%(6,5)		1

2.3.1.4. **Recidiva tumoral y estadio pT.**

Se observó que, en nuestra serie de pacientes, la probabilidad de recidiva tumoral, local o a distancia, entre los 6 y los 72 meses se correlacionaba con el estadio pT inicial. La probabilidad de supervivencia libre de enfermedad era mayor en aquellos pacientes con estadios menos avanzados respecto a aquellos con estadios más avanzados en el momento del diagnóstico, y se observó esta diferencia en todos los puntos de corte de tiempo evaluados (Tabla 50).

Tabla 50. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pT.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
pT						
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)	0,96	1,03 (0,34-3,05)
T2	20 80%(8)	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%(17,7)	3 37,5%(17,1)	1 12,5%(11,7)	<0,001	7,71 (2,57-23,14)
T4	1 50%(35,4)	0 0%(-)	0 0%(-)	0 0%(-)	0,002	13,61 (2,26-69,63)

Con el fin de aumentar la potencia estadística se reagruparon los tumores en estadios de comportamiento similar. Los resultados se exponen en la tabla 51.

Tabla 51. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pT agrupado.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
ESTADIO pT						
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%(8)	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)
>pT3a	8 80%(12,6)	4 40%(15,5)	3 30%(14,5)	1 10%(9,5)	<0,001	8,39 (3,54-19,87)

2.3.1.5. Recidiva tumoral y estadio pN.

Desde el punto de vista clínico el estadio de todos los pacientes incluidos en el estudio era N0, sin embargo en nueve de ellos se detectó afectación ganglionar en el estudio histológico tras la cirugía. Se observaron diferencias en probabilidad de supervivencia libre de enfermedad de los pacientes pN0 comparada con la de los pacientes pN2 con significación estadística ($p < 0,001$), pero no se observaron diferencias entre pN0 y pN1 (Tabla 52).

Tabla 52. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el estadio pN.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
ESTADIO pN						
pN0	117 92,3%(2,3)	98 81,8%(3,4)	74 78,9%(3,7)	44 68,2%(4,8)		1
pN1	3 75%(21,7)	3 75%(21,7)	2 50%(25)	2 50%(25)	0,50	1,65 (0,4-6,94)
pN2	2 88,7%(6,1)	0 68,6%(9,2)	0 64,5%(9,5)	0 58,7%(10,3)	<0,001	10,43 (3-36,22)

2.3.1.6. Recidiva tumoral y tipo histológico.

No se observaron diferencias con significación estadística en el comportamiento de los tumores según el tipo histológico del carcinoma de células renales, desde el punto de vista de la supervivencia libre de enfermedad en nuestra serie.

Sin embargo, en los datos obtenidos se reflejó que los CCR cromófobos y los CCR del tipo quístico multilocular mostraban en general una buena evolución con un porcentaje libre de enfermedad del 100% a los 36 meses y del 87,5% a los 72 meses para los cromófobos y del 100% a los 72 meses para los del tipo quístico multilocular (Tabla 53).

Tabla 53. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el tipo histológico.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
TIPO HISTOLÓGICO						
Células claras	88 90,1%(3)	71 76,6%(4,3)	55 73,1%(4,5)	37 63,6%(5,4)		1
Papilar	19 90,5%(6,4)	16 81%(8,6)	10 74,7%(9,9)	3 62,3%(14,1)	0,80	1,11 (0,49-2,52)
Cromófono	13 100%(-)	13 100%(-)	13 100%(-)	5 87,5%(11,7)	0,13	0,21 (0,29-1,54)
Quístico-multilocular	4 100%(-)	4 100%(-)	4 100%(-)	4 100%(-)	0,98	Indeterminado

2.3.1.7. Recidiva tumoral y grado nuclear.

En nuestra serie, el porcentaje de pacientes libres de enfermedad a los 72 meses fue mayor cuanto menor era el grado nuclear. Sin embargo, según los datos obtenidos el comportamiento de los tumores con grados 1 y 2 fué muy similar (Tabla 54). Por esta razón se estratificaron los pacientes según el grado nuclear en dos grupos: de “bajo grado” (grados 1 y 2) y de “alto grado” (grados 3 y 4). De este modo conseguimos una mayor potencia estadística y se obtuvieron resultados con mayor significación estadística (Tabla 55).

Tabla 54. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el grado nuclear.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
GRADO NUCLEAR						
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%(8)	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)

Tabla 55. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según el grado nuclear reagrupado en “bajo grado” y “alto grado”.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
GRADO NUCLEAR						
Bajo grado	83 98,8%(1,2)	76 92,8%(2,8)	58 91,4%(3,1)	35 81,4%(5)		1
Alto grado	39 78,9%(5,7)	25 57,8%(7,1)	18 50,4%(7,4)	11 40%(7,9)	<0,001	4,94 (2,59-9,43)

2.3.1.8. Recidiva tumoral y necrosis coagulativa tumoral.

Se observó un comportamiento diferente en función de la presencia o no de necrosis coagulativa tumoral y también en función de su extensión valorada como porcentaje estimado del volumen tumoral en cada caso. Los resultados mostraban que el grupo de pacientes cuyos tumores presentaban necrosis tumoral tenían una menor supervivencia libre de enfermedad, con mayor probabilidad de recidiva (Tabla 56) (Figura 34), y que además la probabilidad de recidiva era mayor cuanto mayor era la extensión de la necrosis (Tabla 57) (Figura 35).

Tabla 56. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de necrosis coagulativa tumoral.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
NECROSIS TUMORAL						
Presente	29 73,8%(6,8)	19 52,7%(8)	14 52,7%(8)	8 42,1%(9,2)	<0,001	3,68 (2,01-6,74)
Ausente	93 97,9%(1,5)	82 90,4%(3)	62 85,5%(3,8)	38 75,2%(5,1)		

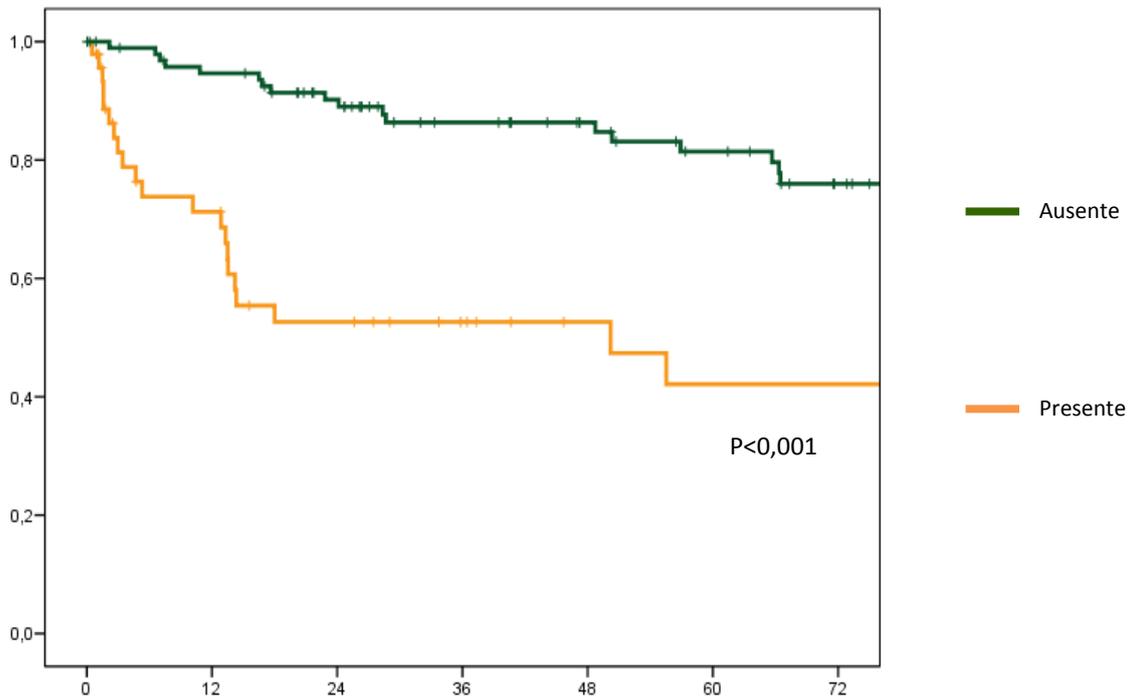


Figura 34. Curva de Kaplan-Meier para supervivencia libre de enfermedad según la presencia o ausencia de necrosis coagulativa tumoral.

Tabla 57. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de necrosis coagulativa tumoral y según su extensión .

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
NECROSIS TUMORAL %						
Ausente	93 97,9%(1,5)	82 90,4%(3)	62 85,5%(3,8)	38 75,2%(5,1)		1
<25%	13 77,8%(9,8)	9 59,8%(11,8)	6 59,8%(11,8)	3 59,8%(11,8)	0,027	2,64 (1,12-6,26)
25-50%	11 69,7%(11,4)	6 42,2%(12,8)	5 42,2%(12,8)	3 25,3%(12)	<0,001	4,89 (2,34-10,21)
>50%	5 72,9%(16,5)	4 58,3%(18,6)	3 58,3%(18,6)	2 58,3%(18,6)	0,016	3,72 (1,28-10,86)

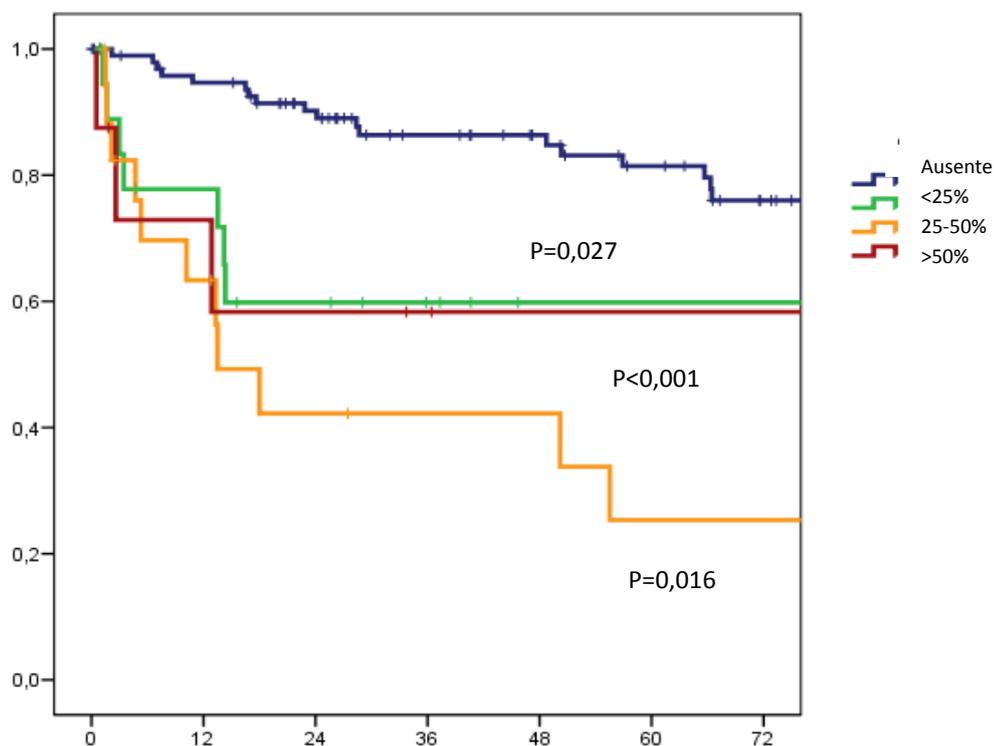


Figura 35. Curvas Kaplan-Meier para la supervivencia libre de enfermedad según la extensión de la necrosis coagulativa tumoral.

2.3.1.9. **Recidiva tumoral e infiltrado inflamatorio de células mononucleares.**

Se observó un comportamiento diferente en cuanto a probabilidad de recidiva tumoral en los distintos grupos con significación estadística ($p=0,001$). La supervivencia libre de enfermedad era peor en el grupo de pacientes cuyos tumores presentaban un infiltrado de células mononucleares y dentro de este grupo, en aquellos con mayor intensidad del infiltrado (Tabla 58 y 59) (Figura 36).

Tabla 58. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de infiltrado de células mononucleares y según su extensión .

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
INFILTRADO DE CELULAS MONONUCLEARES						
Ausente	47 97,9%(2,1)	43 95,8%(2,9)	34 93,3%(3,8)	16 78,7%(7,4)		1
Focal	43 95,6%(3,1)	33 79,6%(6,1)	23 73,9%(6,9)	17 66,1%(8)	0,033	2,66 (1,08-6,54)
Moderado	23 77,5%(7,5)	19 64,1%(8,7)	16 60,5%(8,9)	11 55,8%(9,4)	0,004	3,78 (1,52-9,42)
Intenso	9 76,2%(12,1)	6 50,8%(14,4)	3 50,8%(14,4)	1 25,4%(19,3)	<0,001	7,34 (2,54-21,18)

Tabla 59. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la presencia o no de infiltrado de células mononucleares y según su extensión, reagrupado .

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
INFILTRADO DE CELULAS MONONUCLEARES						
Ausente	47 97,9%(2,1)	43 95,8%(2,9)	34 93,3%(3,8)	17 78,7%(7,4)		1
Focal	43 95,6%(3,1)	33 79,6%(6,1)	23 73,9%(6,9)	17 66,1%(8)	0,034	2,65 (1,08-6,50)
Moderado-intenso	32 77%(6,4)	25 6,2%(7,5)	19 57,7%(7,6)	12 50%(8,3)	0,001	4,52 (1,91-10,67)

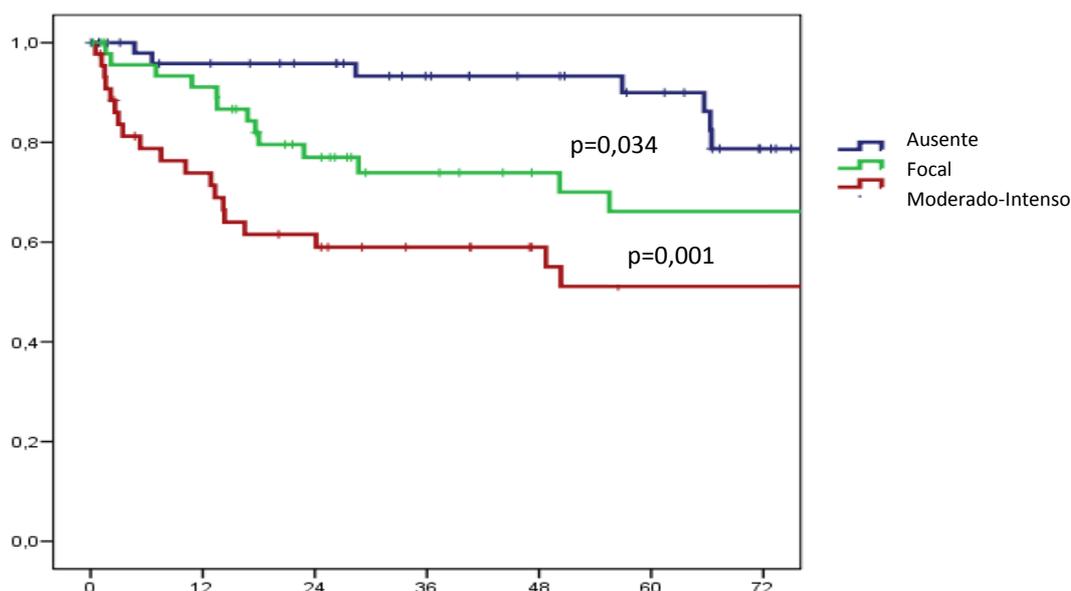


Figura 36. Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia libre de enfermedad según la extensión del infiltrado inflamatorio de células mononucleares.

2.3.2. RECIDIVA TUMORAL SEGÚN LAS VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS.

2.3.2.1. KI67.

Al comparar en nuestra serie los tumores que presentaban inmunotinción para ki67 en <20% de los núcleos con los que lo expresaban en $\geq 20\%$ de los núcleos observamos una evolución significativamente distinta entre ambos grupos. Los pacientes cuyos tumores expresaban ki67 en $\geq 20\%$ tenían un riesgo 2,61 veces mayor de recidiva tumoral a los 72 meses de evolución (HR=2,61 con IC del 95% 1,01-6,72 y $p= 0,04$) (Tabla 60) (Figura 37)

Tabla 60. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de ki67.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
Ki67						
Baja Prolifer. (<20%)	105 9,8%(2,7)	87 80,2%(3,7)	67 76,1%(4)	41 66,1%(5)		1
Alta Prolifer. ($\geq 20\%$)	7 78,8%(8,7)	5 56,3%(16,5)	3 56,3%(16,5)	0 28,1%(1,5)	0,04	2,61 (1,01-6,72)

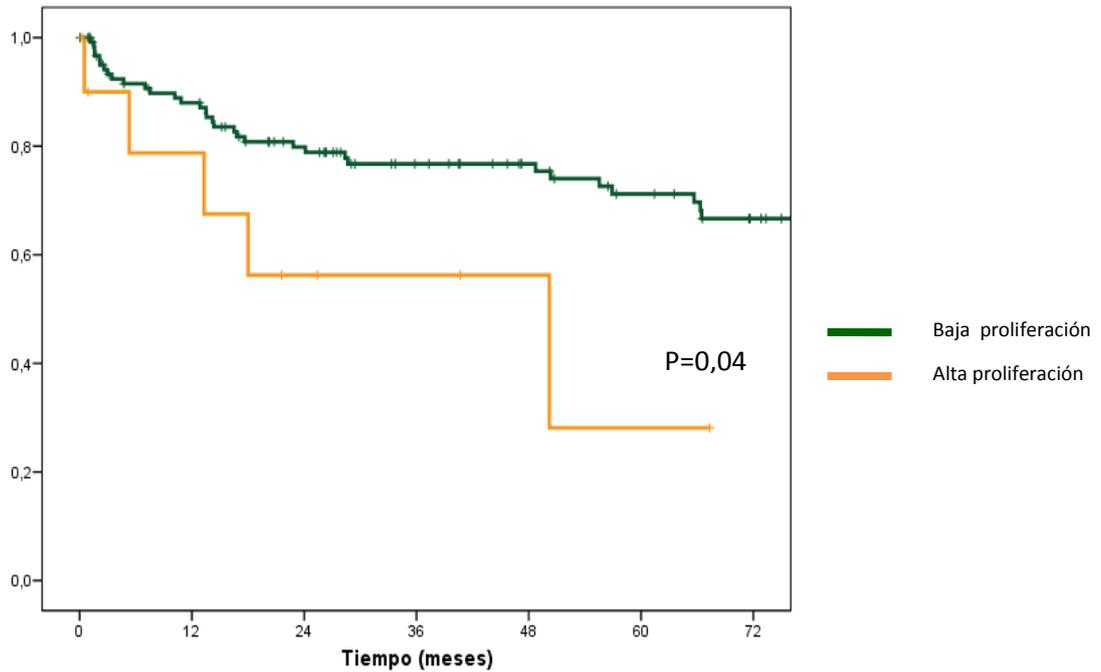


Figura 37. Curva Kaplan-Meier para la supervivencia libre de enfermedad según la expresión de Ki67.

2.3.2.2. p53.

Comparando el grupo de pacientes cuyos tumores expresaban p53 en menos del 10% de las células con el grupo de pacientes cuyos tumores lo expresaban en el 10% o más, la evolución fué similar en cuanto a la probabilidad de recidiva tumoral en los distintos puntos de corte en el tiempo evaluados para ambos grupos (Tabla 61).

Tabla 61. Supervivencia de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de p53.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
p53						
Negativo (<10%)	92 89,6%(3)	74 76,6%(4,4)	58 74,3%(4,4)	35 64,5%(5,3)		1
Positivo (≥10%)	20 90,9%(6,1)	18 86,4%(7,3)	12 75,5%(9,7)	6 60,4%(12,3)	0,940	0,03 (0,46-2,33)

2.3.2.3. **MDM2.**

En nuestra serie no se observaron diferencias significativas en la probabilidad de recidiva tumoral entre el grupo de pacientes cuyos tumores mostraban inmunotinción para MDM-2 en el 10% o más de las células y el grupo cuyos tumores lo mostraban en < del 10% (Tabla 62).

Tabla 62. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de MDM-2.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
MDM-2						
Negativo (<10%)	82 89,4%(3,2)	66 77,1%(4,4)	48 74,4%(4,6)	31 64,6%(5,7)		1
Positivo (≥10%)	28 96,6%(3,4)	24 86,2%(6,4)	18 78,3%(7,9)	8 62,1%(10,4)	0,733	1,14 (0,54-2,40)

2.3.2.4. **Bcl-2.**

Comparando el grupo de pacientes cuyos tumores expresaban Bcl-2 en menos del 10% de las células con el grupo de pacientes cuyos tumores lo expresaban en el 10% o más de las células, no encontramos diferencias significativas en cuanto a probabilidad de recidiva tumoral. La evolución fué similar en ambos grupos para los distintos puntos de corte en el tiempo evaluado (Tabla 63).

Tabla 63. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión de Bcl-2.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
Bcl-2						
Negativo	78 89%(3,3)	64 76,3%(4,5)	49 73,7%(4,7)	30 62,2%(5,9)		1
Positivo	34 94,6%(3,7)	28 83,4%(6,2)	21 76,7%(7,3)	11 67,6%(8,8)	0,995	0,998 (0,51-1,96)

2.3.2.5. **Survivina.**

- Survivina citoplasmática.

En primer lugar se estratificó la serie en cuatro grupos según la expresión de survivina en el citoplasma de las células tumorales y la intensidad de inmunotinción (negativo, débil, moderada e intensa) y se relacionó con la evolución de los pacientes evaluando los intervalos libres de enfermedad para cada grupo en cada punto de corte en el tiempo. Aunque la probabilidad de no recidiva a los 72 meses fué diferente en los distintos grupos, con porcentajes mayores para los tumores que no mostraban inmunotinción o con inmunotinción débil, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el riesgo de recidiva tumoral (Tabla 64).

Tabla 64. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión citoplasmática de Survivina.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
SURVIVINA CITOPLASMÁTICO						
Negativo	4 100%(-)	4 100%(-)	4 100%(-)	4 100%(-)		1
Débil	17 89,5%(7)	17 89,5%(7)	14 89,5%(7)	12 82,6%(9,3)	0,91	Indeter
Moderada	42 86,3%(4,8)	34 72%(6,4)	30 69,8%(6,5)	19 58,9%(7,5)	0,89	Indeter
Intensa	50 94,5%(3,1)	38 80,5%(5,6)	22 75,2%(6,4)	9 60,4%(9,2)	0,89	Indeter

Sin embargo, al estratificar los pacientes de la serie en dos grupos según la expresión citoplasmática de survivina negativa/débil o moderada/intensa, encontramos diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia libre de enfermedad ($p=0,03$), con un riesgo de recidiva tumoral 3,62 veces mayor para el grupo con expresión moderada/intensa respecto al grupo con expresión negativa/débil ($HR=3,62$ con IC del 95% entre 1,11 y 11,83 y con $p=0,03$) (Tabla 65)(Figura 38).

Tabla 65. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión citoplasmática de Survivina, reagrupado.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
SURVIVINA CITOPLASMÁTICA						
Negativa/débil	21 91,3%(5,9)	21 91,3%(5,9)	18 91,3%(5,9)	15 85,6%(7,8)		1
Moderada/intensa	92 90,5%(2,9)	72 76,3%(4,2)	52 72,8%(4,5)	28 60,2%(5,7)	0,03	3,62 (1,11-11,83)

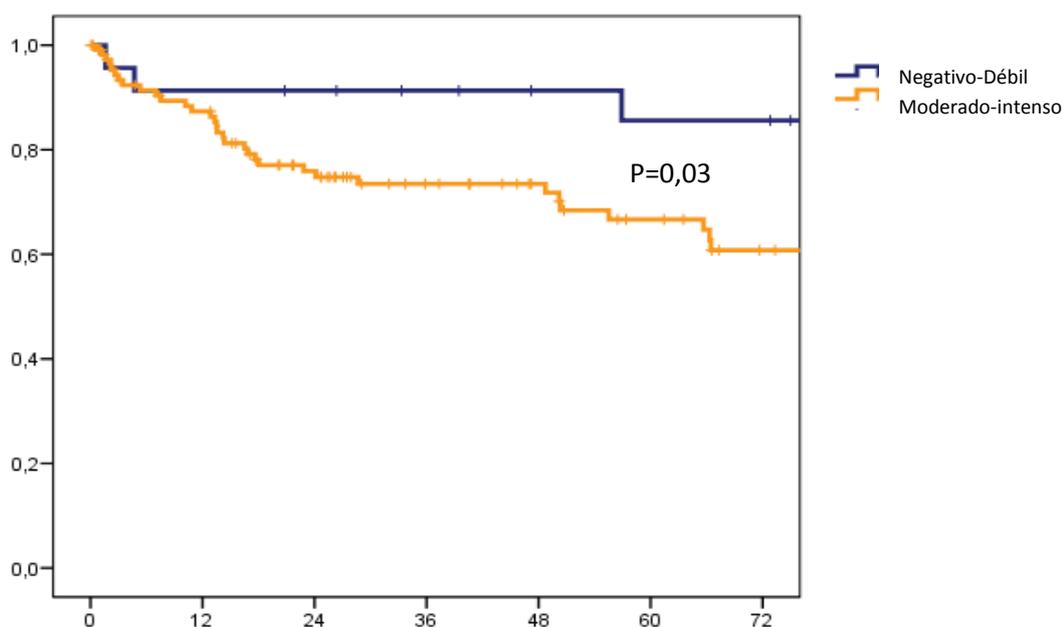


Figura 38. Curvas Kaplan-Meier para la supervivencia libre de enfermedad según la expresión citoplasmática de survivina.

- Survivina nuclear.

Al evaluar la supervivencia libre de enfermedad en relación con la expresión de survivina en el núcleo de las células tumorales, no encontramos diferencias significativas entre el grupo de pacientes cuyos tumores mostraban inmunotinción y el grupo de pacientes cuyos tumores no mostraban inmunotinción (Tabla 66).

Tabla 66. Supervivencia libre de enfermedad de la serie a los 6, 18, 36 y 72 meses, según la expresión nuclear de Survivina.

	6 meses n Prob (EE)	18 meses n Prob (EE)	36 meses n Prob (EE)	72 meses n Prob (EE)	P	HR (IC) 95%
SURVIVINA NUCLEAR						
Negativo	62 90,2%(3,5)	52 82,6%(4,6)	35 79,2%(5)	16 68,4%(7,2)		1
Positivo	51 91,2%(3,8)	41 75%(5,8)	35 73%(6)	27 61,7%(6,9)	0,28	1,42 (0,75-2,68)

2.3.3. ANÁLISIS ESTRATIFICADO DE LAS VARIABLES.

Se analizaron las relaciones que pudieran existir entre la expresión inmunohistoquímica de los distintos marcadores moleculares aquí estudiados y las distintas variables clínicas y patológicas mediante el cálculo de su significación estadística y de los riesgos relativos (HR) en relación con la mortalidad y el intervalo libre de enfermedad.

En nuestra serie únicamente se identificaron interacciones de la expresión ki67 con otras variables capaces de influir en la probabilidad de muerte o recidiva tumoral.

2.3.3.1. KI67.

Cuando estratificamos según el estadio pT el grupo de tumores con alta proliferación (expresión elevada de ki67), encontramos un riesgo 5,22 veces mayor para la mortalidad ($p=0,004$) en los tumores $pT1\text{-}ki67 \geq 20\%$, sin significación estadística en el resto de estadios.

También se encontraron diferencias en el pronóstico en los tumores con alta proliferación (expresión elevada de ki67), en función del tipo histológico, con un mayor riesgo para los CCR de células claras- $Ki67 \geq 20\%$ comparados con el resto de los tipos histológicos con expresión de Ki67, tanto en la mortalidad ($HR=6,24$; $p=0,01$) como en el riesgo de recidiva ($HR=3,06$; $p=0,04$).

En cuanto a la interacción con otras variables inmunohistoquímicas, únicamente identificamos un aumento en el riesgo relativo de mortalidad ($HR=4,40$; $p=0,04$) en los

tumores con alta proliferación (expresión elevada de Ki67) y que no expresaban Bcl2, comparados con los tumores con expresión elevada de ambos marcadores (Tabla 67).

Tabla 67. Análisis estratificado para la expresión de Ki 67.

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				
Células Claras	0,001	6,24 (2,20-17,69)	0,04	3,06 (1,05-8,96)
Papilar	0,88	0,85 (0,69-7,39)	0,94	1,09 (0,12-9,91)
-Expresión de Bcl-2				
(-)	0,004	4,40 (1,60-12,16)	-----	
(+)	0,10	5,98 (0,69-51,58)	-----	

2.3.4. ANÁLISIS MULTIVARIABLE.

Se realizó el análisis multivariable para las variables que tuvieron significación estadística en el estudio univariable, primero incluyendo todos los subtipos histológicos y posteriormente considerando sólo los pacientes con subtipo histológico de células claras.

2.3.4.1. Análisis multivariable para el estudio de supervivencia en pacientes con carcinoma de células renales.

En la tabla 68 se reflejan los resultados del modelo de análisis multivariable para la supervivencia en la serie completa.

Ni el grado nuclear ni el tipo histológico se comportaban como factor pronóstico independiente en relación a la supervivencia en nuestra serie.

El **estadio tumoral pT** sí se comportaba como un factor pronóstico independiente en nuestra serie. Agrupando los estadios pT1a + pT1b y tomando este grupo como referencia, los pT2 tenían 5,27 veces más probabilidad de muerte ($p=0,012$), los pT3a 3,72 veces ($p=0,05$) y los pT3b + T4 13,12 ($p<0,001$).

El estadio ganglionar **pN** se comportaba también como un factor pronóstico independiente de supervivencia, de forma que los pN2 mostraban un riesgo de muerte 4,5 veces mayor que los pN0 ($p=0,035$). Sin embargo no se observaron diferencias significativas en el riesgo de muerte para los pN1 comparados con los pN0 (HR=0,36; $p=0,378$).

En cuanto a las variables histopatológicas no convencionales, la presencia de necrosis coagulativa tumoral se comportaba como factor pronóstico independiente en nuestra serie con un riesgo 2,53 veces mayor en estos tumores comparados con aquellos en los que no se identificaba este tipo de necrosis ($p=0,03$).

El **infiltrado de células mononucleares** también se comportaba como factor pronóstico independiente en el estudio multivariable para la supervivencia en nuestra serie, de tal forma que los tumores con presencia de infiltrado inflamatorio tenían una peor supervivencia (HR=3,30; $p=0,004$) comparados con aquellos en los que no se detectaba.

De las variables inmunohistoquímicas analizadas, la expresión Ki67 se comportaba en nuestra serie como un factor pronóstico independiente. La alta proliferación medida con Ki67 en el tumor se asoció a un riesgo de muerte 3,5 veces mayor en comparación con los tumores con baja tasa de proliferación de este marcador (HR=3,52; $p=0,032$).

Tabla 68 . Modelo multivariable de Cox para evaluar factores pronósticos independientes de supervivencia en pacientes con diagnóstico de carcinoma de células renales.

Variable Estratificada	HRa IC 95%	P
- Edad	0,989 (0,948-1,033)	0,627
-Estadio T		
T1	1	
T2	5,27 (1,44-19,20)	0,012
T3a	3,72 (0,1-13,89)	0,05
>T3a	13,12 (3,47-49,54)	<0,001
-Estadio pN		
pN0	1	
pN1	0,36 (0,04-3,47)	0,378
pN2	4,50 (1,11-18,25)	0,035
- Necrosis Coag-tumoral		
Ausente	1	
Presente	2,53 (1,07-5,97)	0,034
- Infiltrado de células mononucleares		
Ausente	1	
Presente	3,30 (1,45-7,51)	0,004
- Expresión Ki67		
Ki67 (baja proliferación)	1	
Ki67 (alta proliferación)	3,52 (1,12-11,07)	0,032

HRa: Hazard Ratios ajustados

IC: Intervalo de confianza

* Datos ajustados por edad, estadio T, estadio pN, necrosis coag-tumoral, infiltrado de células mononucleares, expresión Ki67.

2.3.4.2. **Análisis multivariable para el intervalo libre de enfermedad en los pacientes con carcinoma de células renales.**

En la tabla 69 se reflejan los resultados del análisis multivariable para el intervalo libre de enfermedad en la serie completa.

No se identificaron diferencias significativas en cuanto al riesgo de recidiva en función de las variables patológicas clásicas como el tipo histológico o el grado nuclear, pero sí en función del **estadio pT**, de tal forma que los pT2 tienen 2,72 veces más probabilidad de recidiva tumoral ($p=0,046$), los pT3a 2,07 veces, sin alcanzar significación estadística ($p=0,118$), y los pT3b + T4 7,88 veces ($p<0,001$).

El estadio ganglionar pN también se comportaba como factor predictivo de recidiva tumoral en nuestra serie, con un riesgo 4,34 veces mayor para los pN2 ($p=0,04$) comparados con los pN0. En los pN1 encontramos un riesgo 3,3 veces mayor pero sin significación estadística ($p=0,254$).

La **necrosis coagulativa tumoral** se comportaba como factor pronóstico independiente, de tal forma que existía un riesgo mayor de recidiva tumoral en los tumores que mostraban este tipo de necrosis ($HR=2,69$; $p=0,006$) respecto a los que no la mostraban.

El **infiltrado de células mononucleares** se comportaba también como factor pronóstico independiente en el estudio multivariable para el riesgo de recidiva tumoral. Los tumores con presencia de infiltrado inflamatorio tenían un riesgo mayor de recidiva ($HR=2,85$; $p=0,003$) comparados con aquellos en los que no se detectaba.

Tabla 69. Modelo multivariable de Cox para evaluar factores pronósticos independientes de supervivencia libre de enfermedad en pacientes con carcinoma de células renales.

Variable Estratificada	HRa IC 95%	P
- Edad		
≤ 61a	1	
> 61a	0,99 (0,96-1,03)	0,85
-Estadio pT		
pT1	1	
pT2	2,72 (1,02-7,29)	0,046
pT3a	2,07 (0,83-5,19)	0,118
>pT3a	7,88 (2,84-21,85)	<0,001
-Estadio pN		
pN0	1	
pN1	3,30 (0,04-2,35)	0,254
pN2	4,34 (1,07-17,58)	0,04
- Necrosis Coag-tumoral		
Ausente	1	
Presente	2,69 (1,33-5,47)	0,006
- Infiltrado de células mononucleares		
Ausente	1	
Presente	2,85 (1,43-5,70)	0,003

HRa: Hazard Ratios ajustados

IC: Intervalo de confianza

* Datos ajustados por edad, estadio pT, estadio pN, necrosis coag-tumoral, infiltrado de células mononucleares.

2.3.4.3. Análisis multivariable para el estudio de supervivencia en pacientes con carcinoma de células renales de células claras.

Al realizar el análisis multivariable teniendo en cuenta únicamente los carcinomas del subtipo de células claras hemos obtenido unos resultados algo diferentes que se reflejan en la tabla 70.

El **estadio tumoral pT** se comportaba también como un factor pronóstico independiente en este grupo. Los carcinomas pT2 tenían 4,66 veces más

probabilidad de muerte ($p=0,027$), los pT3a 5,14 veces más ($p=0,009$) y los pT3b + T4 12,44 veces más ($p<0,001$).

La presencia de **infiltrado inflamatorio de células mononucleares** (ICM) intratumoral también se comportaba como un factor pronóstico independiente para la supervivencia en los CCR de células claras, aumentando 3,05 veces el riesgo de muerte ($p=0,012$)

En cuanto a las variables inmunohistoquímicas analizadas, sólo la alta tasa de proliferación medida con **Ki67**, se comportaba como un factor pronóstico independiente de supervivencia, con mayor probabilidad de muerte ($HR=5,34$; $p=0,003$) comparado con el resto de los tumores.

Sin embargo, a diferencia de los datos obtenidos en la serie completa ni el estadio ganglionar pN, ni la presencia de necrosis coagulativa tumoral se comportaban como factor pronóstico independiente para la supervivencia en este subtipo histológico de CCR.

Tabla 70. Modelo multivariable de Cox para evaluar factores pronósticos independientes de supervivencia en pacientes con diagnóstico de carcinoma de células renales de células claras.

Variable Estratificada	HRa IC 95%	P
-Estadio pT		
pT1	1	
pT2	4,66 (1,19-18,309)	0,027
pT3a	5,14 (1,51-17,51)	0,009
>pT3a	12,44 (3,46-44,70)	<0,001
- Infiltrado de células mononucleares		
Ausente	1	
Presente	3,05 (1,78-16,00)	0,012
-Ki 67		
Alta proliferación	1	
Baja proliferación	5,34 (1,78-16,00)	0,003
-Estadio pN		
pN0	1	
pN1	0,531 (0,066-4,279)	0,552
pN2	2,625 (0,272-25,35)	0,404
-Necrosis Coagulativa		
Ausente	1	
Presente	2,24 (0,838-6,006)	0,108

HRa: Hazard Ratios ajustados

IC: Intervalo de confianza

* Datos ajustados por, estadio pT, infiltrado de células mononucleares, ki67.

2.3.4.4. Análisis multivariable para el intervalo libre de enfermedad en los pacientes con carcinoma de células renales de células claras.

En el análisis multivariable para el estudio del intervalo libre de enfermedad en los CCR de células claras se obtuvieron unos resultados algo diferentes a los

obtenidos en el estudio de la supervivencia para este subgrupo y también diferían en algunos aspectos con los obtenidos para el estudio del intervalo libre de enfermedad en la serie completa. Estos resultados quedan reflejados en la tabla 71.

El estadio tumoral pT se comportaba como factor pronóstico independiente pero en este caso sólo en los estadios avanzados >pT3a se obtuvieron diferencias con significación estadística, con un riesgo de recidiva tumoral 6,48 veces mayor ($p=0,002$) comparado con el estadio precoz pT1. En los estadios tumorales intermedios se obtuvieron diferencias pero sin significación estadística.

La presencia de infiltrado **inflamatorio de células mononucleares (ICM)** intratumoral también se comportaba como factor pronóstico independiente para el riesgo de recidiva ($HR=2,95$; $p=0,005$).

Al contrario de lo que ocurría con la serie completa, ni el estadio ganglionar pN ni la presencia de necrosis coagulativa tumoral se comportaban como factor pronóstico independiente para el riesgo de recidiva en el subtipo histológico de células claras. La presencia de NCT se asoció a una mayor probabilidad de recidiva, pero sin alcanzar significación estadística ($p=0,069$).

Al igual que ocurría en la serie completa, tampoco se observaron diferencias significativas en el riesgo de recidiva en función de la expresión de las distintas variables inmunohistoquímicas analizadas en el subtipo histológico de células claras.

Tabla 71. Modelo multivariable de Cox para evaluar factores pronósticos independientes de supervivencia libre de enfermedad en pacientes con carcinoma de células renales de células claras.

Variable Estratificada	HRa IC 95%	P
-Estadio pT		
pT1	1	
pT2	2,55 (0,92-7,01)	0,07
pT3a	2,15 (0,78-5,91)	0,139
>pT3a	6,48 (2,02-20,80)	0,002
- Necrosis Coag-tumoral		
Ausente	1	
Presente	2,87 (0,94-4,53)	0,069
- Infiltrado de células mononucleares		
Ausente	1	
Presente	2,95 (1,38-6,30)	0,005
- Estadio pN		
pN0	1	
pN1	0,268 (0,034-2,099)	0,210
pN2	2,849 (0,332-24,447)	0,340

HRa: Hazard Ratios ajustados

IC: Intervalo de confianza

* Datos ajustados por, estadio pT, necrosis coag-tumoral, infiltrado de células mononucleares.



DISCUSIÓN

V. DISCUSION.

Gracias al diagnóstico precoz, aproximadamente un 70% de los CCR se diagnostican en estadios localizados, pero a pesar del tratamiento quirúrgico, en un 30% de estos pacientes la enfermedad progresa y acaban desarrollándose metástasis. De hecho, la mortalidad en el CCR se ha mantenido en los últimos años y no ha disminuido, como sería de esperar, con un mayor número de casos diagnosticados precozmente. Estos datos apoyan la necesidad de, no sólo desarrollar terapias sistémicas más efectivas para la enfermedad progresiva, sino también de identificar nuevos marcadores que proporcionen información que nos permita predecir la evolución en el momento del diagnóstico y la respuesta al tratamiento (Figura 39).

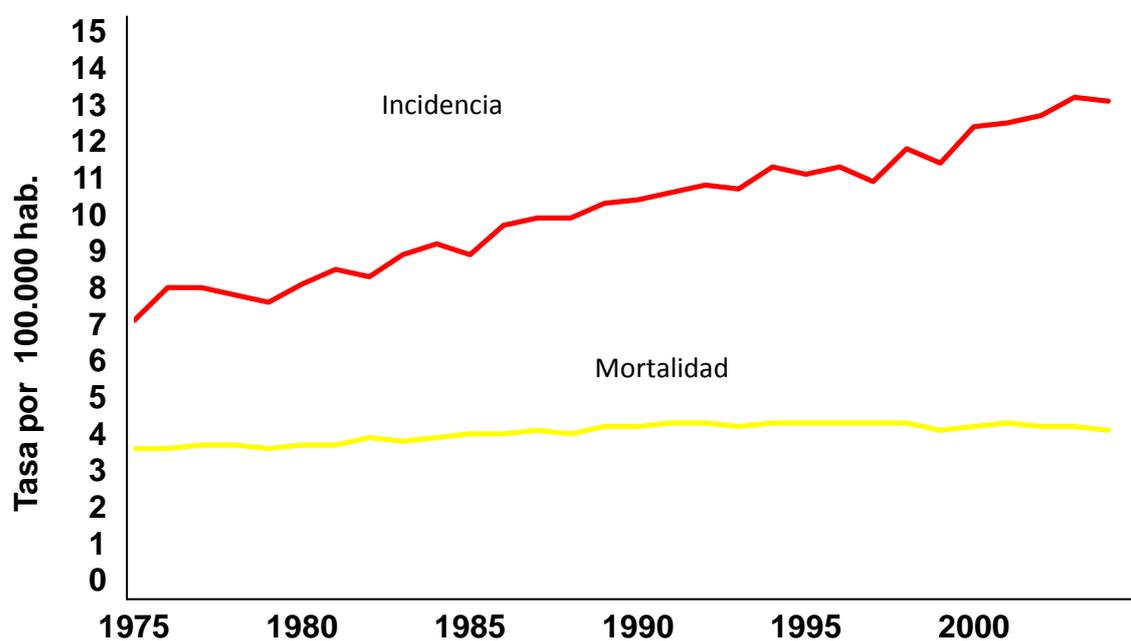


Figura 39. Evolución de la incidencia y mortalidad del CCR en EE.UU.

VARIABLES HISTOLÓGICAS.

ESTADIO TUMORAL pT.

El estadio tumoral está considerado de forma generalizada como el más potente indicador de pronóstico en el CCR

El significado pronóstico del tamaño tumoral está ampliamente reconocido. A pesar de esto, las recientes modificaciones en el sistema TNM se han centrado en redefinir los puntos de corte en el tamaño del tumor para establecer las distintas categorías en los estadios T1 y T2 y poder así identificar aparentemente aquellos tumores que, aun estando en estadios tempranos, desarrollarán recurrencias o metástasis a pesar del tratamiento quirúrgico.

En los múltiples estudios realizados para evaluar el valor pronóstico del tamaño tumoral se han establecido diferentes puntos de corte con significado pronóstico. Esto no es sorprendente cuando ya se sabe que el tamaño tumoral es una variable continua que se asocia a una mayor probabilidad de muerte, y como consecuencia de esto, cualquier punto de corte arbitrario tendría significado pronóstico en un estudio si la muestra fuera lo suficientemente amplia¹¹⁰. El interés creciente y la controversia existente para establecer estos puntos de corte óptimos residen en la importancia a la hora de determinar el tratamiento quirúrgico más adecuado.

En lo que se refiere al estadio T1, mientras que diversos estudios han evaluado las diferencias en la supervivencia entre las categorías pT1a y pT1b, a efectos de encontrar el punto de corte óptimo en función del cual someter a nefrectomía parcial o total, otros estudios como el de Leibovich²⁸⁸ no se han encontrado diferencias en la evolución entre los tumores menores de 4cm y los tumores entre 4 y 7cm, tras ajustar otros factores pronósticos. Es posible que, como indican otros autores, sea más determinante en el pronóstico la posibilidad de extirpación parcial con márgenes libres, determinada por la accesibilidad, más que el tamaño tumoral en sí.

En cuanto a la extensión regional del CCR, los tumores clasificados como T3 han demostrado tener una evolución y un pronóstico muy variables, de hecho sigue habiendo debate en lo que se refiere a la estratificación y extensión de las distintas variables que se consideran en esta categoría, como la infiltración directa de la glándula suprarrenal, la infiltración microscópica de la vena renal o del tejido adiposo perirrenal y del seno renal. Como consecuencia de todo esto, la clasificación TNM continúa evolucionando en base a los resultados de los distintos estudios multicéntricos que se llevan a cabo a gran escala para redefinir las distintas categorías, en un intento de mejorar la capacidad de predecir el comportamiento de estos tumores.

En nuestra serie no se han detectado diferencias de comportamiento entre los estadios pT1a y pT1b, lo cual probablemente sea debido al tamaño de la muestra, por eso se han considerado como una categoría (pT1).

Tanto en el análisis univariable como en el multivariable para el cálculo de la supervivencia y del intervalo libre de enfermedad, se obtienen riesgos aumentados en todas las categorías con respecto al estadio más inicial (pT1), en la mayoría de los casos con significación estadística y en algunos sin significación estadística pero indicando una tendencia, por lo que podemos considerar que nuestros resultados se hallan en consonancia con lo publicado y que el estadio tumoral (pT), de acuerdo con la 6ª clasificación TNM del 2002, se confirma como un factor pronóstico de supervivencia en el CCR en este estudio.

ESTADIO GANGLIONAR pN.

El valor pronóstico de la afectación ganglionar ha sido aceptado y reconocido desde los primeros sistemas establecidos para estadiar el CCR. En este caso, al igual que con el estadio tumoral, el principal objeto de controversia reside en el establecimiento de los puntos de corte para definir las categorías en la afectación ganglionar de forma que sirvan para categorizar los pacientes en grupos con riesgo de progresión diferente.

En algunos estudios realizados para la validación de la clasificación TNM del 2002 como el de Terrone¹³⁴, no se detectaron diferencias entre las tasas de supervivencia de los pN1 y pN2 tras 5 años de seguimiento (20 y 17% respectivamente), sin embargo cuando se clasificaron los casos en ≤ 4 y >4 ganglios con metástasis, sí se encontraron diferencias significativas en la supervivencia entre ambos grupos. En este estudio, además, no sólo la afectación ganglionar, sino también la densidad de dicha afectación, se comportaba como factor pronóstico independiente.

Canfield¹³³, sin embargo, si halló diferencias significativas entre la supervivencia de estos dos grupos, con un peor pronóstico para los pN2 comparados con los pN1.

En otro estudio, posterior a la 6ª clasificación TNM, se han encontrado diferencias significativas entre las supervivencias de N+ comparadas con N0, con un aumento de la mortalidad directamente proporcional al número de ganglios linfáticos afectados¹³⁶.

En nuestro estudio, por un lado, hemos detectado diferencias significativas en la supervivencia de los pN2 comparados con pN0, mientras que las diferencias en la supervivencia de los pN1 comparados con los pN0 son mínimas y sin significación estadística. Por lo tanto, aunque parece que el estadio ganglionar se confirma como factor pronóstico independiente en nuestra serie, tan sólo en los estadios pN2 se comporta como tal.

Según el estudio de Dimashkieh¹³⁵, existe un riesgo de muerte aumentado en los pacientes con metástasis ganglionares en los que se observa extensión extracapsular, comparados con los casos en los que la afectación metastásica ganglionar se encuentra dentro de los confines de la cápsula ganglio linfático. Teniendo en cuenta este estudio e intentando poner nuestros resultados en consonancia con la literatura actual y las tendencias de la clasificación TNM, se puede pensar que la extensión más allá de la cápsula ganglionar en el primer ganglio metastatizado podría ser una característica determinante de progresión tumoral, más que la simple infiltración inicial del ganglio y de ahí que la afectación de un solo ganglio (pN1) pueda o no tener significado pronóstico, según las distintas series, siempre que no se tenga en cuenta dicha característica.

El papel de la linfadenectomía en el manejo de los pacientes con CCR continúa siendo también objeto de debate y su evaluación se ve, además, dificultada por la relativa escasa cantidad de pacientes que muestran metástasis en ganglios linfáticos en ausencia de diseminación tumoral extranodal²⁸⁶. La realización de linfadenectomía podría ser potencialmente curativa en aquellos pacientes con extensión tumoral limitada a los ganglios linfáticos, sin embargo no existe en la actualidad una prueba de imagen que pueda detectar con suficiente sensibilidad y especificidad la presencia de metástasis ganglionares. En diversos centros, como en el nuestro, únicamente se realiza linfadenectomía hiliar de forma sistemática con intención pronóstica y sólo cuando se detecta la existencia de masas ganglionares sospechosas se realiza la exéresis de las mismas. La identificación de aquellos pacientes con mayor probabilidad de tener metástasis ganglionares ocultas podría centrarse en el estudio y detección de la invasión linfática intratumoral^{286, 287}. Además, es posible que, en el futuro, con la utilización cada vez más generalizada de técnicas de imagen de alta resolución, se puedan también solventar estas dificultades en el estudio del significado pronóstico de la afectación ganglionar.

TIPO HISTOLÓGICO.

A pesar de que en la última clasificación de la OMS queda claro que los distintos subtipos histológicos del CCR muestran diferentes alteraciones genéticas y diferencias clinicopatológicas significativas, existe aún controversia en lo que se refiere al posible impacto que pudiera tener el subtipo histológico en el pronóstico.

En nuestra serie, la distribución según los distintos subtipos histológicos (73% de células claras, 14,2% papilares, 8,8% cromófbos y 2,7% quísticos multiloculares) parece estar en consonancia con lo descrito en la literatura^{61, 240}. En el análisis univariable, hemos obtenido una supervivencia a los 72 meses del 79,0% para los carcinomas de células claras, del 95,4% para los papilares, del 100% para los cromófbos y del 100% para el tipo quístico multilocular, sin significación estadística. La probabilidad de no recidiva tumoral ha sido del 63,6%, 62,3%, 87,5% y 100%, respectivamente, sin alcanzar igualmente significación estadística. En el estudio

multivariable tampoco hemos observado significación estadística en las diferencias de supervivencia o del intervalo libre de enfermedad. Según nuestros resultados, el tipo histológico no se comporta como un factor pronóstico independiente. Algunos estudios realizados sobre series más extensas han encontrado una asociación en el análisis univariable que no se ha mantenido en el análisis multivariable, por lo que su consideración es la misma. Por ejemplo, Patard¹⁵⁰, en un estudio multicéntrico sobre una serie de 4063 pacientes con CCR, al realizar el análisis univariable de los subtipos papilar y cromóforo, observó que se asociaban significativamente a un mejor pronóstico, pero después de ajustar el estadio TNM, el grado y el estado ECOG en el análisis multivariable no se mantenían esas diferencias. Karakiewicz²⁴¹, en otro estudio multicéntrico sobre 2530 pacientes, no encontró tampoco diferencias significativas en el pronóstico en función del tipo histológico en el análisis multivariable.

Sin embargo, existen estudios que sí han encontrado dicha asociación. Por ejemplo, Leibovich²⁸⁸, en un estudio retrospectivo sobre una serie de 3062 pacientes, concluyó que el tipo histológico sí se comportaba como un factor pronóstico independiente, con un peor pronóstico asociado al tipo de células claras comparado con los tipos papilar y cromóforo (HR=2,76, p<0,001), después de incluir otras variables (edad, género, modo de presentación, estadio TNM, tamaño tumoral, grado nuclear, necrosis coagulativa tumoral, diferenciación sarcomatoide y multifocalidad) en el análisis multivariable. Teloken²⁴⁰ encontró resultados similares en un estudio centralizado sobre 1863 pacientes, cuyos resultados mostraron un mejor pronóstico para los subtipos papilar y cromóforo en comparación con el de células claras, obteniendo diferencias significativas, que se mantuvieron en el estudio multivariable. Tanto Teloken como Leibovich pusieron en tela de juicio los resultados de los estudios de Patard, aludiendo a posibles errores en la clasificación histológica de los casos, por falta de revisión centralizada, al tratarse de un estudio multicéntrico. Sin duda, los resultados obtenidos por Leibovich en una serie tan extensa (de hasta 3062 CCR), son bastante significativos teniendo en cuenta, además, la gran cantidad de variables que consideró en su análisis.

De todos estos datos se podría extraer la conclusión de que es muy probable que el tipo histológico tenga cierto grado de implicación en el pronóstico del CCR, pero debido al fuerte impacto que parecen tener en este las otras variables implicadas (grado nuclear, estadio tumoral, etc), en el análisis multivariable de la mayoría de estos estudios, este efecto queda eclipsado y no se puede concluir que el tipo histológico sea un factor pronóstico independiente.

GRADO NUCLEAR DE FUHRMAN.

El grado nuclear es considerado como uno de los factores pronósticos más importantes en el CCR.

En nuestra serie de tumores hemos observado un comportamiento similar entre los G1 y G2 por un lado y entre los G3 y G4, por otro lado, por lo que decidimos agrupar esta variable en 2 categorías con la intención de aumentar la potencia estadística.

En el estudio univariable hemos obtenido un riesgo de mortalidad 7,73 veces mayor (HR=7,73, $p < 0,001$) y un riesgo de recidiva o metástasis 4,94 veces mayor (HR=4,94, $p < 0,001$) en los tumores de alto grado (G3 y G4) comparados con los de bajo grado (G1 y G2). Estas diferencias, sin embargo, no se han mantenido en el estudio multivariable. Considerando únicamente los carcinomas de células claras, tampoco hemos encontrado diferencias significativas ni en la supervivencia ni en la probabilidad de recidiva, en función del grado nuclear, en el análisis multivariable. Una posible explicación para estos resultados, en principio discordantes con la mayoría de los estudios, podría ser que, el efecto del grado nuclear, tanto en la supervivencia como en el riesgo de recidiva, haya sido anulado por el de otras variables incluidas en nuestro estudio, con mayor influencia, los cuales se discutirán más adelante.

A pesar de que existe una aceptación generalizada en considerar el grado nuclear de Fuhrman como uno de los marcadores pronósticos más determinantes en el CCR, continúa habiendo controversias en relación a la validez de este sistema de clasificación nuclear. Un punto débil en el sistema de Fuhrman es la ausencia de una escala de prioridades en el momento de valorar las distintas características que se

deben valorar, atribuyéndose, por tanto, igual peso a cada una de ellas en la valoración final. Por otro lado, en el sistema de clasificación de Fuhrman no existe una aclaración sobre si se debe establecer el grado en función del más alto encontrado, o del grado predominante en el tumor. Según Delahunt²⁴², todo esto presupone una interpretación subjetiva por parte del patólogo, con la consecuente falta de reproductibilidad interobservador. Este autor, además, refiere que, si bien es poco cuestionable que los tumores de bajo y alto grado se asocian a un mejor y peor pronóstico respectivamente, la mayoría de los CCR son clasificados en los grados intermedios, para los que la evolución es menos predecible, y por eso en los estudios en los que se compara este grupo con el resto, no se obtienen diferencias significativas. En estudios limitados al CCR de células claras se observan diferencias significativas en la supervivencia entre los distintos grados, por separado o combinados, 1+2 y 3+4^{243, 244, 245}, sin embargo, estas diferencias no se mantienen en todos los casos en el análisis multivariable^{244, 245}. Por otro lado, pocos estudios han intentado validar el sistema de Fuhrman más allá del CCR de células claras. Algunos estudios indican que el grado nuclear en el CCR papilar debería basarse únicamente en la prominencia del nucléolo²⁴⁶ y otros refieren que ninguna de las características analizadas en la clasificación de Fuhrman proporcionan información de utilidad pronóstica en el CCR cromóforo²⁴⁷.

NECROSIS COAGULATIVA TUMORAL.

De entre todas las variables clínicas y patológicas estudiadas en el CCR, la necrosis histológica tumoral es una de las más atractivas, en parte por su potencial valor predictivo del pronóstico y también por la posibilidad de su valoración histológica de forma rutinaria y sin costes añadidos. La necrosis coagulativa tumoral es una característica histopatológica bien definida (muy probablemente infraevaluada por los patólogos e infravalorada por los urólogos), que no debe confundirse con cambios degenerativos, fibrosis o depósito de fibrina en el CCR. Algunos modelos han evaluado el potencial predictivo de la necrosis tumoral y su influencia en la mortalidad cáncer-específica, en combinación con otras variables de significado pronóstico más

establecidas. De hecho, la combinación de las variables necrosis tumoral, estadio TNM, tamaño tumoral y grado de Fuhrman constituyen el nomograma llamado "The Mayo Clinic Stage, Size, Grade and Necrosis (SSIGN) score"¹¹⁷. Sin embargo, en otros nomogramas, como el de Karakiewicz²⁴¹ no se incluye la necrosis tumoral como variable a considerar.

En nuestra serie de tumores se detectó la presencia de necrosis coagulativa tumoral en un 32,4%, con la siguiente distribución según la extensión respecto al volumen tumoral: 0% necrosis=67,6%, 0-25%=14,2%, 26-50%=12,8%, 51-75%=4,1% y >76%=1,4%.

En nuestro estudio, la presencia de necrosis se ha confirmado como un factor pronóstico que indica una mayor probabilidad de muerte y de recidiva tumoral en el CCR. En el subtipo histológico de células claras los resultados tan solo han indicado una tendencia a una mayor probabilidad de recidiva tumoral.

En los estudios publicados hasta la fecha, la necrosis tumoral no se ha asociado de forma uniforme a un peor pronóstico. En uno de los estudios con la serie de pacientes más extensa (3009 CCR), Sengupta¹⁵³ evaluó la presencia de necrosis coagulativa tumoral. Tanto en el análisis univariable como en el multivariable, después de ajustar según el estadio, el tamaño tumoral y el grado histológico, encontró diferencias significativas con una peor supervivencia para los CCR con presencia de necrosis coagulativa tumoral (HR=1,90, $p<0,001$). Katz²⁴⁸, en su serie de 841 CCR, halló una asociación similar en el análisis multivariable evaluando la presencia o ausencia de necrosis (HR=2,56, $p<0,001$) y además, valorando la necrosis de forma cuantitativa, encontró también diferencias significativas en la supervivencia de los tumores con <50% de necrosis (HR=2,12, $p<0,001$) y los tumores con >50% de necrosis (HR=4,71, $p<0,001$) comparándolos con los que no presentaban necrosis. Klatte²⁴⁹, en su serie de 343 pacientes observó que la presencia de >20% de necrosis tumoral se asociaba a una peor supervivencia. Lam²⁵⁰ encontró una asociación significativa entre la presencia de necrosis y una peor supervivencia en el CCR localizado, pero no así en el CCR metastásico.

Sin embargo, también hay estudios en los que no se observan estas asociaciones. En una de estas series, Sorbellini²⁵¹ evaluó 701 tumores y no encuentra diferencias significativas en el análisis multivariable; no obstante, en su serie solamente 23 tumores (3,2%) presentaban necrosis. Isbarn²⁵² evaluó la posibilidad de que el valor predictivo de mortalidad cáncer-específica del nomograma de Karakiewicz pudiera ser incrementado mediante la inclusión de la necrosis tumoral entre sus variables, pero no encontró dicho efecto. Rey²⁵³, en un estudio español sobre una serie de tamaño similar a la nuestra, concluyó que la necrosis se comportaba como una variable significativa que se asociaba a una peor supervivencia, aunque en el análisis multivariable no pudo demostrar que se comportara como un factor pronóstico independiente.

Según refiere Sengupta¹⁵³, la falta de apreciación de la necrosis tumoral como un factor pronóstico en el CCR podría explicarse por diferentes motivos: 1) El relativamente limitado número de estudios que han evaluado la necrosis tumoral como una potencial variable de valor pronóstico, 2) La falta de apreciación de las peculiaridades morfológicas genéticas y de comportamiento biológico de los diferentes subtipos histológicos y, 3) Las múltiples definiciones y formas de necrosis que han sido valoradas.

La patogénesis de la necrosis tumoral en el CCR aún no está del todo clara. Según algunos investigadores podría ser la consecuencia de un crecimiento tumoral excesivo que sobrepasa la capacidad del aporte vascular del tumor²⁵⁴. Sin embargo, se ha descrito la presencia de necrosis coagulativa tumoral en CCR de células claras de pequeño tamaño²⁵⁵, y además algunos estudios han mostrado que la necrosis tumoral frecuentemente ocurre en zonas con aumento de la densidad microvascular²⁵⁶. Según las hipótesis planteadas por Hemmerlei²⁵⁶, la hipoxia crónica facilitarían la selección de clones tumorales más resistentes, con la consecuente degeneración de los restantes que acabarían sufriendo necrosis tumoral.

Por otro lado, existen estudios que han demostrado que los CCR que no presentan apenas tejido tumoral viable, fenómeno denominado “necrosis masiva o extensa”, se asocian a un pronóstico similar²⁵⁷, o incluso mejor²⁵⁸ que los que no muestran este fenómeno. Algunos investigadores han sugerido que la presencia de “necrosis

coagulativa tumoral extensa” podría ser el resultado de la respuesta inmune antitumoral²⁶⁴. El CCR destaca entre los tumores sólidos por sus propiedades inmunogénicas y su susceptibilidad a la inmunoterapia, por lo que algunos autores plantean la hipótesis de que los CCR con necrosis coagulativa tumoral extensa, en algunos casos, podrían representar un grupo de tumores en regresión, como resultado de un mecanismo autoinmune²⁶⁴.

INFILTRADO INFLAMATORIO DE CÉLULAS MONONUCLEARES.

Se ha demostrado que la presencia de infiltrado inflamatorio de células mononucleares se correlaciona con un mejor pronóstico en tumores sólidos de pulmón, ovario y páncreas^{160,161,162}. Sin embargo, el impacto que este tipo de infiltrado inflamatorio pudiera tener en el pronóstico del CCR continúa siendo objeto de controversia.

En nuestro estudio, un 36,5% de los tumores no presentaban infiltrado inflamatorio mononuclear y un 64,% presentaban infiltrado inflamatorio de células mononucleares, que en el 32,4% se clasificó como focal, en el 22,3% se clasificó como moderado y el 8,8% como intenso. Webster¹⁶⁸ en su estudio, obtuvo un porcentaje de tumores con infiltrado inflamatorio mononuclear (46%) y una distribución similar a la nuestra, según la intensidad (23%, 17% y 6%, respectivamente).

Los resultados obtenidos en nuestra serie indican que el infiltrado inflamatorio de células mononucleares se comporta como un factor pronóstico capaz de predecir un mayor riesgo de recidiva o muerte en pacientes con CCR.

Nuestros resultados concuerdan en algunos aspectos con los obtenidos por Webster¹⁶⁸ en su valoración cualitativa, no así en la valoración cuantitativa. Este autor analizó la presencia de infiltrado de células mononucleares (independientemente de su fenotipo e inmunofenotipo) en una serie de 306 pacientes con CCR, únicamente del subtipo histológico de células claras, y encontró en el estudio univariable un riesgo incrementado de muerte cáncer-específica (HR=2,63, p<0,001) en los pacientes cuyos tumores sí mostraban infiltrado de células mononucleares comparándolos con

aquellos en los que éste estaba ausente. Esta diferencia se mantenía en el estudio multivariable (HR=1,75, p=0,014) después de ajustar por las variables de significado pronóstico más importantes. Sin embargo, no observó diferencias, ni en la supervivencia ni en la probabilidad de recidiva, en función de la mayor o menor intensidad de dicho infiltrado. Además, más allá de todo esto, Webster hizo también una caracterización de este infiltrado mononuclear, que generalmente se encontraba presente en el CCR de células claras y que parecía estar constituido predominantemente por linfocitos T, macrófagos y células NK, con una pequeña proporción de linfocitos B.

Los estudios previos a éste se han centrado únicamente en valorar el efecto de la población de linfocitos T en el infiltrado intratumoral, con opiniones dispares en lo que se refiere a qué subgrupo de linfocitos T (CD4+ o CD8+) tiene mayor influencia en el comportamiento biológico del CCR.

Kolbec¹⁶³ por ejemplo, encontró en su serie de 24 pacientes un riesgo aumentado de recidiva tumoral para los tumores con infiltrado inflamatorio de linfocitos T. Nakano¹⁶⁵ estudió 221 pacientes con CCR de distintos subtipos histológicos y observó un mayor riesgo de mortalidad cáncer-específica en los pacientes cuyos tumores mostraban un infiltrado inflamatorio abundante de linfocitos T CD8+. Bromwich¹⁶⁶, sin embargo no encontró diferencias en la supervivencia de los pacientes en función del infiltrado de linfocitos T CD8+, pero sugirió que la presencia de un infiltrado intenso de linfocitos T CD4+ se asociaba a una peor supervivencia, independientemente del grado nuclear.

Toda esta controversia, según Webster¹⁶⁸, podría deberse, en parte, a la infravaloración del impacto que pudieran tener en el pronóstico los otros tipos de células inmunes presentes en el infiltrado inflamatorio intratumoral de células mononucleares (linfocitos B, linfocitos NK, macrófagos). En esta línea de discrepancia, Jensen²⁵⁹ analizó el infiltrado inflamatorio intratumoral en una serie de 121 carcinomas de células renales de células claras localizados y encontró que la presencia de neutrófilos intratumorales se comportaba como un factor predictivo de pronóstico independiente y que se asociaba a una menor supervivencia libre de enfermedad (HR=3; p<0,001) y a una mayor mortalidad cáncer específica (HR=3,5; p<0,001). No

halló asociación, sin embargo, entre la presencia de linfocitos T CD8+ y la supervivencia y el riesgo de recidiva tumoral.

Más allá de su posible valor predictivo de pronóstico, la presencia de infiltrado de células mononucleares en el CCR podría tener importancia respecto al abordaje de estos tumores mediante inmunoterapia. Típicamente, el microambiente que rodea a los tumores sólidos, en general, reúne muchas de las características de la inflamación crónica, que, en conjunto, crean unas condiciones muy favorables para el crecimiento y progresión tumoral. Según algunos estudios, las células tumorales podrían expresar citoquinas que, inicialmente, reclutarían células inmunes hacia el tumor pero, posteriormente, neutralizarían su actividad y que, a su vez, las células del infiltrado mononuclear podrían producir citoquinas que, o bien activarían el crecimiento tumoral o bien frenarían la actividad inmune antitumoral ²⁶⁰. Un mecanismo por el que las células tumorales del CCR de células claras podrían actuar inhibiendo la inmunidad antitumoral sería la expresión de la molécula inmunoinhibitoria coestimuladora B7-H1, que ha mostrado tener actividad sobre los linfocitos T volviéndolos anérgicos o induciendo su apoptosis. De este modo, esta molécula podría proteger a los CCR de células claras de la respuesta antitumoral mediada por células T²⁶¹. Se ha demostrado, además, que los pacientes con CCR con altos niveles de B7-H1 tienen una peor supervivencia cáncer-específica^{262, 263, 264}, por lo que esta molécula se perfila como un posible marcador pronóstico y una atractiva diana para inmunoterapia en el CCR.

VARIABLES MOLECULARES.

Debido que el CCR es un tumor resistente a la quimioterapia convencional y dada la baja tasa de respuesta que muestra a la inmunoterapia, el pronóstico de los pacientes con enfermedad avanzada continúa siendo, cuanto menos, incierto. Es por esta razón que la identificación de nuevos factores pronósticos potencialmente detectables en el tejido tumoral podría ser de gran utilidad para predecir la evolución del CCR inicialmente localizado, así como para predecir la respuesta a las nuevas terapias que se están desarrollando recientemente para los pacientes con enfermedad avanzada. A

pesar del gran interés que está suscitando la investigación de estos potenciales factores pronósticos, la realidad es que, hasta la fecha, no se dispone de ningún marcador molecular suficientemente validado para su utilización en el estudio anatomopatológico de rutina y en el manejo clínico de estos tumores.

Ki67.

Uno de los marcadores de proliferación más estudiados y que se correlaciona bien con la fracción de crecimiento de una población celular es el Ki67. Ki67 es una molécula que se expresa en el núcleo de las células durante las fases G1, G2 G3 y M del ciclo celular.

En el análisis univariable para la supervivencia de nuestra serie hemos encontrado un riesgo de muerte 4,91 veces mayor para los tumores con expresión positiva de Ki67 (HR=4,91; p=0,001) comparados con los de expresión negativa. También hemos hallado un riesgo incrementado de recidiva tumoral en los tumores con expresión positiva de Ki67 (HR=2,61; p=0,04).

En el análisis multivariable la diferencia en el riesgo se mantiene con significación estadística (HR=3,52; p=0,032) para la supervivencia, no así para el riesgo de recidiva tumoral.

Cuando realizamos el análisis multivariable únicamente para los CCR del subtipo histológico de células claras, la expresión de Ki67 se ha comportado como factor pronóstico independiente asociado a un mayor riesgo de muerte por CCR (HR=5,34; p=0,003), pero no se ha asociado al riesgo de recidiva tumoral, al igual que en la serie completa.

Múltiples estudios han evaluado la influencia de la expresión de Ki67 en el pronóstico de los pacientes con CCR y en varios de estos estudios se ha demostrado que este marcador de proliferación se comporta como un factor pronóstico independiente^{265, 266}. Algunos estudios han sugerido, además, que la expresión de Ki67 podría ser un marcador de necrosis tumoral²⁵⁰; sin embargo, en una serie de 741 pacientes

Tollefson²⁶⁶ demostró que, aunque sí existe una correlación positiva entre estas dos variables, la información de pronóstico de ambas no se solapaba.

Por otro lado, también existen estudios en los que la expresión de ki67 no se ha comportado como factor pronóstico independiente, pero éstos son, generalmente, sobre series no muy extensas, de no más de 60 pacientes, lo que podría haber influido claramente en sus resultados^{267, 268}.

Klatte²⁶⁹ analizó la supervivencia libre de enfermedad en función de la expresión de ki67, entre otros marcadores moleculares, en una serie de 170 pacientes y encontró un riesgo ligeramente incrementado de recidiva en los pacientes con expresión elevada de Ki67 en el análisis multivariable (HR=1,053; p=0,016).

Parker²⁷⁰, en su estudio sobre una serie de 634 carcinomas de células renales de células claras, concluyó que la expresión elevada de Ki67 se comportaba como un factor pronóstico independiente de mortalidad por CCR y propuso su inclusión, junto con la valoración de survivina y B7-H1, en un panel de marcadores moleculares llamado BioScore, que utilizado en combinación con otros nomogramas que incluyen variables convencionales, podría aumentar significativamente el valor predictivo del pronóstico de éstos.

De todos estos datos se deduce que, ya sea de forma aislada o en combinación con otros marcadores en el contexto de la utilización de nomogramas pronósticos, la tendencia actual es a considerar el marcador de proliferación Ki67 como un factor pronóstico independiente capaz de predecir la evolución en el CCR. Los resultados obtenidos en nuestra serie de pacientes se encuentran en esta línea.

En cuanto a los resultados obtenidos en el análisis estratificado de las variables, no hemos encontrado una clara justificación para el hecho de que, entre los tumores con alta proliferación medida con Ki67, sea mayor la mortalidad en los tumores pT1 comparados con los pT2, tampoco hemos hallado resultados semejantes en la literatura.

En cuanto a la interacción con el inhibidor de la apoptosis Bcl-2, el hecho de que, entre los tumores con alta proliferación celular (expresión elevada de Ki67), sea mayor el

riesgo de muerte en aquellos que, además, no muestran expresión de Bcl-2, tampoco tiene una explicación clara. Teniendo en cuenta que en estudios como el Kallio²⁷¹ la elevada expresión de Bcl-2 se asocia a un peor pronóstico en el CCR, una expresión baja de Bcl-2, al traducirse en un incremento en la apoptosis tumoral contrarrestaría en cierto grado el efecto negativo en el pronóstico de la alta proliferación celular que supone una expresión elevada de Ki67. Es posible que, tal y como sugiere Zhang¹⁶², sea necesario un balance entre la proliferación y la apoptosis celular para el crecimiento y la progresión tumoral. En tumores de otros órganos se ha descrito un incremento en la proliferación celular junto con un incremento de la apoptosis de las células neoplásicas e, incluso, en algunos casos, se ha relacionado con un peor pronóstico^{272, 282}.

P53.

La pérdida de la función normal de la molécula p53 es un evento crítico en el desarrollo y evolución tumorales y ocurre a través de una sucesión de eventos, típicamente mutaciones seguidas de pérdida de heterocigosidad. Mientras que existen evidencias de que, en otros tumores humanos, esta pérdida de la función de p53 supone una ventaja para el crecimiento y la selección de clones tumorales, en lo que se refiere al CCR las cosas no están del todo claras.

La importancia de la inactivación de p53 en el CCR ha sido objeto de controversia. Existen estudios que han descrito una baja frecuencia de detección de p53 mediante inmunohistoquímica, realizados sobre series cortas de pacientes con CCR: 16%, n=31²⁷³ y 2% n=53²⁷⁴. Sin embargo, Haitel²⁰⁹ ha mostrado que la sobreexpresión de p53 es un hecho frecuente en el CCR que ocurre en aproximadamente el 36% de los casos. En otro estudio realizado sobre una serie más extensa de 188 tumores primarios y 58 metastásicos, Zigeuner²⁰⁶ observó sobreexpresión de p53 en el 22,8 de los tumores primarios y en el 51,8% de los metastásicos. Según estos estudios, además, la expresión de p53 varía en función del subtipo histológico y del grado nuclear, siendo más frecuente en el subtipo papilar²⁰⁶ y en los tumores de alto grado²⁰⁹.

En nuestra serie de tumores hemos detectado sobreexpresión de p53 en el 16,2 % de los casos, lo que concuerda con los datos publicados y comentados.

En el análisis univariable no encontramos diferencias significativas en la probabilidad de muerte o recidiva tumoral en función de la expresión de p53.

Múltiples estudios se han llevado a cabo para evaluar la relación entre la expresión de p53 y el pronóstico en el CCR, y no en todos ha demostrado comportarse como un factor pronóstico independiente.

Por un lado, estudios como el de Zigeuner²⁰⁶ han llegado a la conclusión de que, aunque la sobreexpresión de p53 es más frecuente en los subtipos no convencionales (papilar y cromóforo), tan sólo demuestra ser un factor pronóstico independiente en el CCR de células claras. Klatte²⁶⁹ igualmente, después de estudiar una serie de 170 CCR de células claras, concluyó que la expresión de p53 se comportaba como un factor pronóstico independiente en este subtipo histológico. En la serie de Puoch²⁷⁵, tras analizar diferentes factores moleculares, la expresión de p53 se comportaba como factor pronóstico independiente en el CCR de células claras tanto metastático como organoconfinado.

Sin embargo, Bayketin²⁷⁶, tras evaluar los resultados obtenidos a partir de una serie de 104 CCR de distintos subtipos histológicos, no encontró relación entre la expresión de p53 y el pronóstico de los pacientes pero sugirió que la mutación del gen p53 en el CCR podría tener relación con la quimioresistencia de estos tumores. Sakai²⁷⁷ tampoco demostró ninguna asociación entre la expresión de p53 y el pronóstico en su serie de 150 CCR organoconfinados.

MDM-2.

La proteína MDM-2 juega un papel crítico en la regulación de la proliferación y apoptosis celular, regulando de forma negativa la actividad del gen supresor tumoral p53.

En nuestra serie de pacientes, un 23,3% de los tumores mostraban sobreexpresión de MDM-2. En el análisis univariable no se ha observado una asociación entre la expresión de MDM-2 y el pronóstico, en lo que se refiere a la supervivencia o al periodo libre de enfermedad.

Existen pocos estudios que hayan intentado evaluar la influencia de la sobreexpresión de MDM-2 en el pronóstico del CCR, siempre en relación con la expresión de p53, proteína a la que se encuentra funcionalmente ligada.

Moch²⁰⁴, por ejemplo, analizó la supervivencia de una serie de 50 CCR no papilares, en función de la sobreexpresión de MDM-2 y de p53 y, aunque en el análisis univariable encontró que tanto la sobreexpresión de p53 como de MDM-2 se asociaban a un peor pronóstico, en el análisis multivariable sólo la sobreexpresión de p53 se comportaba como factor pronóstico independiente.

Por otro lado, Haitel y cols²⁰⁹ en su estudio observaron que, en el análisis multivariante, la expresión de MDM-2 y la expresión conjunta de p53/MDM-2 tenían una asociación significativa con el pronóstico. Además, encontraron una diferencia significativa en la supervivencia de los pacientes con expresión de mdm-2 y factores clínico-patológicos negativos. Estas observaciones podrían indicar que el papel funcional de MDM-2 contribuiría a la pérdida de la función de p53 de tal manera que favorecería el desarrollo y la progresión de la neoplasia.

Bcl-2.

Una elevada expresión de Bcl-2 está directamente ligada a una disminución de la tasa de apoptosis en las neoplasias malignas sólidas y a un tiempo de supervivencia prolongado de las células neoplásicas. Sin embargo, su implicación en el pronóstico de los pacientes con CCR está aún por determinar.

En la mayoría de las series de casos publicadas al respecto, la expresión de Bcl-2 no se comporta como un factor pronóstico independiente. En algunos de estos estudios se han detectado diferencias significativas en la probabilidad de muerte o de recidiva en el análisis univariable, con un peor pronóstico para los casos con expresión de Bcl-2, pero estas diferencias no se han mantenido en el análisis multivariable. Kallio²⁷¹, por ejemplo, en el análisis de la supervivencia de una serie de 138 CCR encontró una asociación entre la expresión positiva de Bcl-2 y un peor pronóstico, pero estas diferencias no se mantuvieron con significación estadística en el análisis multivariable.

Sakai²⁷⁷ tampoco encuentra significado pronóstico independiente a la expresión de Bcl-2 en su serie de 153 pacientes.

Hay estudios como el de Lee²¹⁶, en los que se ha detectado una mayor expresión de Bcl-2 en los CCR metastásicos en comparación con los tumores órgano-confinados, pero tampoco se ha observado una relación con el pronóstico en este caso.

En nuestra serie de pacientes, un 28,2% de los tumores mostraban expresión citoplasmática de Bcl-2. En el análisis univariable no hemos detectado diferencias en la probabilidad de muerte o recidiva en función de la expresión de Bcl-2, de modo que nuestros resultados están en consonancia con los datos de la literatura. De momento, no se ha podido demostrar que la expresión de Bcl-2 tenga relevancia en el pronóstico del CCR.

Survivina.

La survivina es un inhibidor de la apoptosis frecuentemente detectado en el tejido embrionario en desarrollo y en tejidos neoplásicos, pero no en el tejido normal del adulto. Mediante técnicas de inmunohistoquímica se ha demostrado una expresión aumentada de survivina en neoplasias malignas de distintas localizaciones como en ovario, endometrio, hígado, estómago y colon, entre otras muchas, describiéndose tanto como tinción citoplasmática^{282, 278} como nuclear^{279, 280, 281}. El impacto de la expresión de survivina es diferente para las distintas localizaciones. En general, su expresión en los carcinomas se asocia a unas características histológicas desfavorables y a una peor supervivencia; sin embargo, en algunos carcinomas, como el de estómago o el carcinoma urotelial de vejiga, se ha asociado a una mejor supervivencia general²⁷⁹ y a una mejor supervivencia libre de enfermedad²⁸², respectivamente.

Se dispone de pocos estudios que hayan evaluado la posible relación entre la expresión de survivina, citoplasmática o nuclear, y el pronóstico en los pacientes con CCR. En la mayoría de los estudios realizados la expresión aumentada de survivina se comporta como un factor pronóstico independiente que predice un peor pronóstico. Por ejemplo, Parker²¹⁹, cuantificó la expresión de survivina en 312 CCR de células

claras y analizó su asociación con la progresión de la enfermedad y la supervivencia específica en relación con el tumor. Los pacientes con expresión alta de survivina tenían mayor riesgo de muerte por el CCR que los pacientes con niveles bajos de expresión. En el análisis multivariante, la expresión de survivina se mantenía asociada al riesgo de muerte por CCR incluso después de ajustar en función del ECOG-PS, el estadio TNM, el grado y la puntuación SSIGN de la clínica Mayo. En los 273 pacientes con CCR de células claras localizado, la expresión de survivina mostró una asociación significativa con la progresión del CCR. Resultados similares han sido obtenidos por Krambeck²⁸³ en una serie de 298 CCR de células claras y por Buyn²⁸⁴ en su cohorte de 85 CCR, incluyendo distintos subtipos histológicos con claro predominio de células claras. Baytekin²⁸⁵, sin embargo, no ha encontrado correlación entre la expresión de survivina y la supervivencia en su serie de 104 CCR pero ha sugerido que dicha expresión podría estar relacionada con la resistencia a la quimioterapia en estos tumores.

En nuestro estudio la expresión de survivina no se ha confirmado como un factor pronóstico independiente en el CCR. Nuestros resultados concuerdan más con los obtenidos por Baytekin²⁸⁵ ya que, aunque en el análisis univariable inicial obteníamos diferencias significativas en el riesgo de recidiva según la expresión nuclear de survivina, finalmente en el estudio multivariable no hemos podido concluir que su expresión aumentada implique diferencias significativas en la supervivencia o en el riesgo de recidiva tumoral. En nuestro estudio no hemos podido concluir tampoco que este marcador se comporte como un factor pronóstico independiente. La relativa escasez de estudios al respecto y la falta de homogeneidad en los términos del estudio, en lo que se refiere al tamaño de la serie, al número relativo de cada subtipo histológico, así como al método de valoración de la expresión del marcador y el punto de corte para su estratificación, hacen necesario nuevos estudios con cohortes amplias y una mínima homogeneización de los planteamientos para que en el futuro se pueda dilucidar el papel que este potencial factor pronóstico pueda tener en el comportamiento del CCR.

CONCLUSIONES

VI. CONCLUSIONES.

1. El **estadio tumoral (pT)** se comporta como factor pronóstico independiente para predecir la supervivencia cáncer específica y supervivencia libre de enfermedad en el CCR.
2. El **estadio ganglionar (pN)** se comporta como factor pronóstico independiente para predecir la supervivencia cáncer específica y la supervivencia libre de enfermedad para el estadio pN2 en el CCR, pero no para el subtipo histológico de células claras considerado individualmente.
3. El **tipo histológico** no se comporta como factor pronóstico para predecir supervivencia cáncer específica ni la supervivencia libre de enfermedad en el CCR.
4. El **grado nuclear de Fuhrman** se comporta como factor pronóstico para predecir la supervivencia cáncer específica y la supervivencia libre de enfermedad en el análisis univariable, pero no en el multivariable.
5. La presencia de **necrosis coagulativa tumoral** se comporta como factor pronóstico independiente para predecir la supervivencia cáncer específica y la supervivencia libre de enfermedad en el CCR. Esta significación no se alcanza cuando se valoran de forma individualizada los CCR de células claras.
6. La presencia de **infiltrado inflamatorio de células mononucleares** intratumoral se comporta como factor pronóstico independiente para predecir la supervivencia cáncer específica y la supervivencia libre de enfermedad en el CCR.
7. La **expresión inmunohistoquímica de Ki67** en más del 20% de las células tumorales, es un factor pronóstico independiente para predecir la supervivencia cáncer específica en el subtipo histológico de células claras. En el conjunto de los CCR, se asocia a un efecto negativo en el pronóstico, sin alcanzar significación estadística (tendencia). No se comporta como factor pronóstico para predecir la supervivencia libre de enfermedad.
8. La expresión inmunohistoquímica elevada de **p53, MDM-2, Bcl-2 y survivina**, no se comporta como factor pronóstico para predecir la supervivencia cáncer específica y la supervivencia libre de enfermedad en el CCR.

BIBLIOGRAFIA

VII. BIBLIOGRAFÍA.

¹ Eble JN, Togashi K, Pisani P. Renal cell carcinoma. World Health Organization Classification of Tumors. Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Eds). IARC Press: Lyon 2004. Chap 1; pp: 12-14.

² Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2006. CA Cancer J Clin 2006; 56: 106-130.

³ Robles JE, Rosell D, Zudaire JJ, Berián JM: Epidemiología de los tumores del parénquima renal. Rev Med Univ Navarra. 1999; 43: 68-67.

⁴ McLaughlin JK, Lipworth L: Epidemiologic aspects of renal cell cancer. Semin Oncol. 2000; 27: 115-23.

⁵ Latif F, Tory K, Gnarr J, Yao M, Orcutt ML, Stakouse T, et al. Identification of the von Hippel-Lindau disease tumor suppressor gene. Science 1993; 260: 1317-1320.

⁶ Decker HJ, Eidt EJ, Bieger J. The von Hippel-Lindau tumor suppressor gene. Cancer Genet Cytogenet 1997; 93: 74-83.

⁷ Gallou C, Joly D, Mejean A, Staroz F, Martin N, Tarlet G, et al. Mutations of the VHL gene in sporadic renal cell carcinoma: definition of a riskfactor for VHL patients to develop a RRC. Human Mutat 1999; 13: 464-475.

⁸ Iliopoulos O, Kibel A, Gray S, Kaelin WG. Tumor suppression by the the human von Hippel Lindau product. Nature Med 1995; 1(8):822-826.

⁹ Lee S, Chen D, Humphrey JS, Gnarr JR, Linehan WM, Klausner RD. Nuclear/cytoplasmic localization of the von Hippel Lindau tumor suppressor gene product is determined by cell density. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93(5):1770-1775.

¹⁰ Lonergan KM, Iliopoulos O, Ohh M, Kamura T, Conaway RC, Conaway JW, et al. Regulation of hypoxia-inducible mRNAs by the von Hippel Lindau proteins requires binding to complexes containing Elongins B/C and Cul2. Mol Cell Biol 1998; 18(2):732-741.

¹¹ Deshaies R. SCF and cullin/ring H2-based ubiquitin ligases. Annu Rev Cell Dev Biol 1999; 15:435-467.

¹² Kamura T, Koepp DM, Conrad M, Skowyra D, Moreland RJ, Iliopoulos O, et al. Rbx1, a component of the VHL tumor supresor complex and SCF ubiquitin ligase. Science 1999; 284(5414)657-661.

- ¹³ Stebbins C, Kaelin W, Pavletich NP. Structure of the VHL-Elongin C-Elongin B complex: implications for VHL tumor suppression function. *Science* 1999; 284(5413):455-461.
- ¹⁴ Ohh M, Park C, Ivan M, Hoffman MA, Kim TY, Huang LE, et al. Ubiquitination of HIF requires direct binding to the von Hippel Lindau beta domain. *Nat Cell Biol* 2000; 2(7):423-427.
- ¹⁵ Wenger RH. Cellular adaptation to hypoxia: O₂-sensing protein hydroxylases, hypoxia-inducible transcription factors and O₂-regulated gene expression. *FASEB J* 2002; 16(10):1151-1162.
- ¹⁶ Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med* 2003; 9(6):677-684.
- ¹⁷ Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992; 359(6398):843-845.
- ¹⁸ Bardos JI, Ashcroft M. Hypoxia-inducible factor-1 and oncogenic signalling. *Bioassays* 2004; 26(3):262-269.
- ¹⁹ Kaelin WG Jr, Maher ER. The VHL tumor-suppressor gene paradigm. *Trends Genet* 1998; 14: 423-426.
- ²⁰ Couch V, Lindor MN, Karnes PS, Michels VV. Von Hippel-Lindau disease (REVIEW). *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 265-272.
- ²¹ Verdorfer I, Hobisch A, Hittmair A, Duba HC, Barsch G, Utermann G, Erdel M. Cytogenetic characterization of 22 human renal cell carcinomas in relation to a histopathological classification. *Cancer Genet Cytogenet* 1999; 111(1): 61-70.
- ²² Bernues M, Casadevall C, Miró R, Caballin MR, Gelabert A, Ejarque MJ, et al. Analysis of 3p allelic losses in renal cell carcinomas: comparison with cytogenetic results. *Cancer Genet Cytogenet* 1998; 107(2): 121-124.
- ²³ van den Berg A, Buys CH. Involvement of multiple loci on chromosome 3 in renal cell cancer development. *Genes Chromosomes Cancer* 1997; 19: 59-76.
- ²⁴ Wang N, Perkins KL. Involvement of band 3p14 in t(3;8) hereditary renal carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1984; 11: 479-481.
- ²⁵ Dal Cin P, Li FP, Prout GR Jr, Huben RP, Limon J, Ferti-Passantonopoulou A, et al. Involvement of chromosomes 3 and 5 in renal cell carcinoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 35(1): 41-46.

- ²⁶ Gaugler B, Brouwenstijn N, Vantomme V, Szikora JP, Van der Spek CW, Patard JJ, et al. A new gene coding for an antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on a human renal carcinoma. *Immunogenetics* 1996; 44: 323-330.
- ²⁷ Gemmill RM, West JD, Boldog F, Tanaka N, Robinson LJ, Smith DI, et al. The hereditary renal cell carcinoma 3;8 translocation fuses FHIT to a patched-related gene, TRC8. *Proc Nat Acad Sci* 1998; 95: 9572-9577.
- ²⁸ Fischer J, Palmedo G, von Knobloch R, Bugert P, Prayer-Galetti T, Pagano F, Kovacs G. Duplication and overexpression of the mutant allele of the MET proto-oncogene in multiple hereditary papillary renal cell tumors. *Oncogene* 1998; 17: 733-739.
- ²⁹ Balint I, Fischer J, Ljungberg B, Kovacs G. Mapping the papillary renal cell carcinoma gene between loci D17S787 and D17S1799 on chromosome 17q21.32. *Lab Invest* 1999; 79: 1713-1718.
- ³⁰ Speicher MR, Schoell B, du Manoir S, Schrock E, Ried T, Cremer T, 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 (2): 356-364.
- ³¹ Polascik TJ, Carns P, Epstein JI, Fuzesi L, Ro JY, Marshall FF, Sidransky D, Schoenberg M. Distal nephron renal tumors: microsatellite allelotyping. *Cancer Res* 1996; 56: 1892-1895.
- ³² Hunt JD, van der Hel OL, McMillan GP, et al. Renal cell carcinoma in relation to cigarette smoking: metaanalysis of 24 studies. *Int J Cancer* 2005; 114: 101.
- ³³ Maclure M. Asbestos and renal adenocarcinoma: A case-control study. *Environ Res* 1987; 42: 353.
- ³⁴ Mandel JS, McLaughlin JK, Schlegofer B, et al. International renal cell cancer study. IV. Occupation. *Int J Cancer* 1995; 61: 601.
- ³⁵ McLaughlin JK, Blot WJ, Mehl ES, et al. Petroleum-related employment and renal cell cancer. *J Occup Med* 1985; 27: 672.
- ³⁶ Kolonel LN. Association of cadmium with renal cancer. *Cancer* 1976; 38: 1782.
- ³⁷ Chow WH, Gridley G, Fraumeni JF Jr, Jarvholm B. Obesity, hypertension and the risk of kidney cancer in men. *N Engl J Med* 2000; 343: 1305.
- ³⁸ Chow WH, McLaughlin JK, Linet MS, et al. Use of analgesics and risk of renal cell cancer. *Int J Cancer* 1994; 59: 467.
- ³⁹ Truong LD, Krishnan B, Cao JT, et al. Renal neoplasm in acquired cystic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 1995; 26: 1.

- ⁴⁰ Corless CL, Kibel AS, Iliopoulos O, Kaelin WG JR. Immunostaining of the von Hippel-Lindau gene product in normal and neoplastic human tissues. *Hum Pathol* 1997; 28: 459-464.
- ⁴¹ Los M, Jansen GH, Kaelin WG, Lips CJ, Blijham GH, Voest EE. Expression pattern of the von Hippel-Lindau protein in human tissues. *Lab Invest* 1996; 75:231-238.
- ⁴² Maher ER, Kaelin WG. The von Hippel-Lindau disease. *Medicine* 1997;76(6):381-391.
- ⁴³ Kondo K, Kaelin WG. The von Hippel-Lindau tumor suppressor gene. *Exper Cell Res* 2001; 264(1):117-125.
- ⁴⁴ Maher ER, Yates JR, Harries R, Benjamin C, Harris R, Moore AT, et al. Clinical features and natural history of von Hippel-Lindau disease. *Q J Med* 1990; 77(283):1151-1158.
- ⁴⁵ Lubensky IA, Schmidt L, Zhuang Z, Weirich G, Pack S, Zambrano N, Walther MM, Choyke P, Linehan WM, Zbar B. Hereditary and sporadic papillary renal carcinomas with c-met mutations share a distinct morphological phenotype. *Am J Pathol* 1999;155:517-526.
- ⁴⁶ Schmidt L, Junker J, Weirich G, Glenn G, Choyke P, Lubensky I, Zhuang Z, Jeffers M, Vande Woude G, Neumann H, Walther m, Linehan WM, Zbar B. Two North American families with hereditary papillary renal carcinoma and identical novel mutations in the MET proto-oncogen. *Cancer Res* 1998; 58:1719-1722.
- ⁴⁷ Toro JR, Nickerson ML, Wei MH, Warren MB, Glenn GM, Turner ML, Stewart L, Duray P, Toure O, Sharma N, Choyke P, Stratton P, Merino M, Walther MM, Linehan WM, Schmidt LS, Zbar B. Mutations in the fumarate hydratase gene cause hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer in families in North America. *Am J Hum Genet* 2003; 73:95-106.
- ⁴⁸ Launonen V, Verimaa O, Kiuru m, Isola J, Roth S, Pukkala E, Sistonen P, Herva R, Aaltonen LA. Inherited susceptibility to uterine leiomyomas and renal cell cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 98 2001; 3387-3392.
- ⁴⁹ Khoo SK, Bradley M, Wong FK, Hedblad MA, Nordenskjod M, The BT. Birdt-Hogg-Dube syndrome: mapping of a novel hereditary neoplasia gene to chromosome17p12-q11.2. *Oncogene* 2001; 5239-5242.
- ⁵⁰ Toro JR, Glenn G, Duray P, Darling T, Weirich G, Zbar B, Linehan M, Turner ML. Birt-Hogg-Dube syndrome: a novel marker of kidney neoplasia. *Arch Dermatol* 1999; 135:1195-1202.

- ⁵¹ Cohen AJ, Li FP, Berg S, Marchetto DJ, Tsai S, Jacobs SC, Brown RS. Hereditary renal-cell carcinoma associated with a chromosomal translocation. *N Engl J Med* 1979; 301:592-595.
- ⁵² Kovacs G, Brusa P, de Riese W. Tissue-specific expression of a constitutional 3;6 translocation: development of multiple bilateral renal-cell carcinomas. *Int J Cancer* 1989; 43:422-427.
- ⁵³ Koolen MI, van der Meyden AP, Bodmer D, Eleveld M, van der Looij E, Brunner H, Smits A, van der Berg E, Smeets D, Geurts van Kessel A. A familiar case of renal cell carcinoma and a t(2;3) chromosome translocation. *Kidney Int* 1998; 53:273-275.
- ⁵⁴ Geurts van Kessel A, Wijnhoven H, Bodmer D, Eleveld M, Kiemeneij L, Mulders P, Weterman M, Ligtenberg M, Smeets D, Smits A. Renal cell cancer: chromosome 3 translocations as risk factors. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91:1159-1160.
- ⁵⁵ Zajaczek S, Gronwald J, Kata G, Borowka A, Lubinski J. Familial renal cell cancer (CRCC) associated with a constitutional reciprocal translocation t(2;3)(q33;q21). *Cytogenet Cell Genet* 1999; 85:172.
- ⁵⁶ Kanayama H, Lui WO, Takahasi M, Naroda T, Kedra D, Wong FK, Kuroki Y, Nakahori Y, Larsson C, Kagawa S, Teh BT. Association of a novel constitutional translocation t(1q;3q) with familial renal cell carcinoma. *J Med Genet* 2001; 38:165-170.
- ⁵⁷ Oberling C, Riviere M, Haguenan F. Ultrastructure of the clear cells in renal carcinomas and its importance for the demonstration of their renal origin. *Nature* 1960; 186:402-403.
- ⁵⁸ Bennington JL, Beckwith JB. Tumors of the kidney, renal pelvis, and ureter. Atlas of tumor pathology. Second series. Fascicle 12 p-130. AFIP Washington 1975
- ⁵⁹ Kovacs G. Molecular differential pathology of renal cell tumors. *Histopathology* 1993; 22:1-8.
- ⁶⁰ Kovacs G, Akhtar M, Beckwith BJ et al. The Heidelberg classification of renal cell tumors. *J Pathol* 1997; 183:131-133.
- ⁶¹ Störkel S, Eble JN, Adlaka K et al. Classification of renal cell carcinoma. Workgroup nº1. Union Internationale contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* 1997; 80:987-989.
- ⁶² Grignon DJ, Eble JN, Bonsib SM, Moch H.. Clear cell renal cell carcinoma. World Health Organization Classifications of Tumors. Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Eds) IARC Press: Lyon 2004. Chap 1; pp:23-25.

- ⁶³ Pitz S, Moll R, Storkel S, Thoenes W. Expression of intermediate filament proteins in subtypes of renal cell carcinomas and in renal oncocytomas. Distinction of two classes of renal cell tumors. *Lab Invest* 1987; 56: 642-653.
- ⁶⁴ Yoshida SO, Imam A, Olson CA, Taylor CR. Proximal renal tubular surface membrane antigens identified in primary and metastatic renal cell carcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 1986; 110:825-832.
- ⁶⁵ Avery AK, Beckstead J, Renshaw AA, Corless CL. Use of antibodies to RCC and CD10 in the differential diagnosis renal neoplasm. *Am J Surg Pathol* 2000; 24:203-210.
- ⁶⁶ Kim MK, Kim S. Immunohistochemical profile of common epithelial neoplasms arising in the kidney. *Appl. Immunohistochem Mol Morphol* 2002; 10: 332-338.
- ⁶⁷ Delahunt B, Eble JN. Papillary renal cell carcinoma. *World Health Organization Classifications of Tumors. Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs.* Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Eds). IARC Press: Lyon 2004. Chap 1; pp:27-29.
- ⁶⁸ Delahunt B, Eble JN. Papillary renal cell carcinoma: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 105 tumors. *Mod Pathol* 1997; 10:537-544.
- ⁶⁹ Zhou M, Roma A, Magi-Galluzzi C et al. The usefulness of immunohistochemical markers in the differential diagnosis of renal neoplasms. *Clin Lab Med* 2005; 25: 247-257.
- ⁷⁰ Störkel S, Martignoni G, van der Berg E. Chromophobe renal cell carcinoma. *World Health Organization Classifications of Tumors. Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs.* Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Eds) IARC Press: Lyon 2004. Chap 1; pp:30-31.
- ⁷¹ Thoenes W, Storkel S, Rumpelt HJ. Human chromophobe cell renal carcinoma. *VirchowsArch B Cel Pathol Incl Mol Pathol* 1985; 48:207-217.
- ⁷² Thoenes W, Storkel S, Rumpelt HJ, Moll R, Baum HP, Werner S. Chromophobe renal cell carcinoma and its variants- a report on 32 cases. *J Pathol* 1988; 155:277-287.
- ⁷³ Srigley JR, Eble JN. Collecting duct carcinoma of the kidney. *Sem Diagn Pathol* 1998; 15:54-67.
- ⁷⁴ Orsola A, Trias I, Raventos CX et al. Renal collecting duct carcinoma displays similar characteristics to upper tract urothelial cell carcinoma. *Urology* 2005 Jan; 65 (1): 49-54. Review.
- ⁷⁵ Fleming S, Lewi HJ. Collecting duct carcinoma of the kidney. *Histopathology* 1986; 10:1131-1141.

- ⁷⁶ Davis CJ. Renal medullary carcinoma. World Health Organization Classification of Tumors. Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Eds). IARC Press: Lyon 2004. Chap 1; pp: 35.
- ⁷⁷ Davis CJr, Mostofi FK, Sesterhenn IA. Renal medullary carcinoma. The seventh sickle cell nephropathy. *Am J Sur Pathol* 1995; 19:1-11.
- ⁷⁸ Rodriguez-Jurado R, Gonzalez-Crussi R. Renal medullary carcinoma. Immunohistochemical and ultrastructural observations. *J Urol Pathol* 1996; 4:19-203.
- ⁷⁹ Srigley JR. Mucinous tubular and spindle cell carcinoma. World Health Organization Classifications of Tumors. Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Eds). IARC Press: Lyon 2004. Chap 1; pp:40.
- ⁸⁰ Parwani AV, Husain AN, Epstein JI, Beckwith JB, Argani P. Low-grade myxoid renal epithelial neoplasms with distal nephron differentiation. *Hum Pathol* 2001; 32:506-512.
- ⁸¹ Srigley JR, Eble JN, Grignon DJ, Hartwick RWJ. Unusual renal cell carcinoma (RCC) with prominent spindle cell change possibly related to the loop of Henle. *Mod Pathol* 1999; 12:107.
- ⁸² Srigley J, Kapusta L, Reuter V, Amin M, Grignon DJ, Eble JN, Weber A, Moch H. Phenotypic, molecular and ultrastructural studies of a novel low-grade renal epithelial neoplasm possible related to the loop of Henle. *Mod Pathol* 2002; 15:182.
- ⁸³ Eble JN. Multilocular cystic renal cell carcinoma. World Health Organization Classifications of Tumors. Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA (Eds) IARC Press: Lyon 2004. Chap 1; pp: 26.
- ⁸⁴ Eble JN, Bonsib SM. Extensively cystic renal neoplasms: cystic nephroma, cystic partially differentiated nephroblastoma, multilocular cystic renal cell carcinoma, and cystic hamartoma of the renal pelvis. *Semin Diagn Pathol* 1998; 15: 2-20.
- ⁸⁵ Murad T, Komaiko W, Oyasu R, Bauer K. Multilocular cystic renal cell carcinoma. *Am J Clin Pathol* 1991; 9:633-637.
- ⁸⁶ Eble JN. Renal cell carcinoma, unclassified. World Health Organization Classifications of Tumors. Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn I (Eds). IARC Press: Lyon 2004. Chap 1; pp:47.
- ⁸⁷ 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.

- ⁸⁸ Fuhrman SA, Lasky LC, Limas C. Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1982; 6: 655-663.
- ⁸⁹ DeKernion JB, Belldegrun A, Tumores renales. En: Campbell Urología. Walsh, Retik, Stamey, Vaughan (Eds). Buenos Aires. Ed. Panamericana S.A, 1994. Cap 27, pp: 1049-1089.
- ⁹⁰ Folcks RH, Kadesy MC. Malignant neoplasms of the kidney; an analysis of 353 patients followed five years or more. *J Urol* 1958; 79: 196-201.
- ⁹¹ Robson CJ, Churchill BM, Anderson W. The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *J Urol* 1969; 101: 297-301.
- ⁹² Guinan P, Sobin LH, Algaba F, et al. TNM staging of renal cell carcinoma : workgroup nº 3. Union Internatinal Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC). *Cancer* 1997; 80: 992-993.
- ⁹³ Hermanek P, Schrott M. Evaluation of the new tumor nodes and metastases classification of renal cell carcinoma. *J Urol* 1990; 144: 238-241 (discussion 41-2)
- ⁹⁴ Sobin LH, Wittekind C. TNM classification of malignant tumors. 6th ed. New York: Willey-Liss; 2002.
- ⁹⁵ Lee CT, Katz J, Shi W, Thaler HT, Reuter VE, Russo P. Surgical management of renal tumors 4 cm or less in a contemporary cohort. *J Urol* 2000; 163: 730-736.
- ⁹⁶ Lattouf JB, Trinh QD, Saad F. The contemporary role of surgery in kidney cancer. *Curr Oncol* 2009; 16:S8–S15.
- ⁹⁷ Ljungberg B, Hanbury DC, Kuczyk MA, et al. Guidelines on Renal Cell Carcinoma. European Association of Urology. 2008.
- ⁹⁸ von Knobloch R, Seseke F, Riedmiller H, et al. Radical nephrectomy for renal cell carcinoma: Is adrenalectomy necessary? *Eur Urol*. 1999; 36:303-8.
- ⁹⁹ Lui KW, Gervais DA, Mueller PR. Radiofrequency ablation: an alternative treatment method of renal cell carcinoma. *Chang Gung Med J*. 2004; 27:618-2.
- ¹⁰⁰ 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.
- ¹⁰¹ Gill IS, Remer EM, Hasan WA, et al. Renal cryoablation: outcome at 3 years. *J Urol*. 2005; 173:1903-7.

-
- ¹⁰² Flanigan RC, Salmon SE, Blumenstein BA, et al. Nephrectomy followed by interferon alfa-2b compared with interferon alfa-2b alone for metastatic renal cell cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 1655-1659.
- ¹⁰³ Mickisch GH, Garin A, van Poppel H, de Prijck L, Sylvester R. Radical nephrectomy plus interferon-alfa-based immunotherapy compared with interferon alfa alone in metastatic renal-cell carcinoma: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358: 966-970
- ¹⁰⁴ Rini BI, Flaherty K. Clinical effect and future considerations for molecularly-targeted therapy in renal cell carcinoma. *Urol Oncol.* 2008; 26:543-9.
- ¹⁰⁵ Rini BI, Campbell SC, Escudier B. Renal cell carcinoma. *Lancet.* 2009 Mar 28;373:1119-32. Epub 2009 Mar 5.
- ¹⁰⁶ Garcia JA, Rini BI. Recent progress in the management of advanced renal cell carcinoma. *CA Cancer J Clin* 2007; 57:112-125.
- ¹⁰⁷ 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.
- ¹⁰⁸ Targonski PV, Frank V, Stuhldreher D, Guinan PD. Value of tumor size in predicting survival from renal cell carcinoma among tumors, nodes and metastases stage 1 and stage 2 patients. *J Urol* 1994; 152: 1389-1392.
- ¹⁰⁹ Giuliani P, Giberti C, Martorana G, Rovida S. Radical extensive surgery for renal cell carcinoma: long-term results and prognostic factors. *J Urol* 1990; 143: 468-473.
- ¹¹⁰ 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: 1930-1933.
- ¹¹¹ Fergany AF, Hafez KS, Novick AC. Long term results of nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: 10-year followup. *J Urol* 2000; 163: 442-445.
- ¹¹² Lam JS, Shvarts O, Alemozaffar M, et al. 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(suppl): 469.
- ¹¹³ Mitchell RE, Gilbert SM, Murphy AM, Olsson CA, Benson MC, McKiernan JN. Partial nephrectomy and radical nephrectomy offer similar cancer outcomes in renal cortical tumors 4 cm or larger. *Urology* 2006; 67: 260-264.
- ¹¹⁴ Frank I, Blute M, Leibovich BC, et al. pT2 classification for renal cell carcinoma. Can its accuracy be improved? *J Urol* 2005; 173: 380-384.

- ¹¹⁵ 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.
- ¹¹⁶ Tsui KH, Shvarts O, Smith RB, Figlin RA, deKernion JB, Belldegrun A. 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.
- ¹¹⁷ Frank I, Blute ML, Cheville JC, Lohse CM, Weaver AL, Zincke H. 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 SSING score. *J Urol* 2002; 168: 2395-2400.
- ¹¹⁸ 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.
- ¹¹⁹ Klestscher BA, Qian J, Botswick DG, Blute ML, Zincke H. Prospective analysis of the incidence of ipsilateral adrenal metastases in localized renal cell carcinoma. *J Urol* 1996; 155: 1844-1846.
- ¹²⁰ 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.
- ¹²¹ 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.
- ¹²² Paul R, Mordhorst J, Busch R, Leyh H, Hartung R. Adrenal sparing surgery during radical nephrectomy in patients with renal cell cancer: a new algorithm. *J Urol* 2001; 166: 59-62.
- ¹²³ Pagano F, Dal Bianco M, Artibani W, Pappagallo G, Prayer Galletti G. Renal cell carcinoma with extension into the inferior vena cava: problems in diagnosis, staging and treatment. *Eur Urol* 1992; 22: 200-203.
- ¹²⁴ Hatcher PA, Anderson EE, Paulson DF, Carson CC, Robertson JE. Surgical management and prognosis of renal cell carcinoma invading the vena cava. *J Urol* 1991; 145: 20-23.
- ¹²⁵ 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.
- ¹²⁶ Kim HL, Zisman A, Han KR, Figlin RA, Belldegrun AS. Prognostic significance of venous thrombus in renal cell carcinoma. Are renal vein and inferior vena cava involvement different? *J Urol* 2004; 171: 588-591.

-
- ¹²⁷ Zisman A, Wieder JA, Pantuck AJ, et al. Renal cell carcinoma with tumor thrombus extension: biology, role of nephrectomy and response to immunotherapy. *J Urol* 2003; 169: 909-916.
- ¹²⁸ Pantuck AJ, Zisman A, Dorey F, et al. Renal cell carcinoma with retroperitoneal lymph nodes: role of lymph node dissection. *J Urol* 2003; 169: 2076-2083.
- ¹²⁹ Pantuck AJ, Zisman A, Dorey F, et al. Renal cell carcinoma with retroperitoneal lymph nodes. Impact on survival and benefits of immunotherapy. *Cancer* 2003; 97: 2995- 3002.
- ¹³⁰ Vasselli JR, Yang JC, Linehan WM, White DE, Rosenberg SA, Walther MM. Lack of retro peritoneal lymphadenopathy predicts survival of patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 2001; 166: 68-72.
- ¹³¹ Terrone C, 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.
- ¹³² Studer UE, Scherz S, Scheidegger J, et al. Enlargement of regional lymph nodes in renal cell carcinoma is often not due to metastases. *J Urol* 1990; 144: 243-245.
- ¹³³ Canfield SE, Kamat AM, Sanchez-Ortiz RF, Detry M, Swanson DA, Wood CG. 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.
- ¹³⁴ Terrone C, Cracco c, porpiglia F, et al. Reassessing the current TNM lymph node staging for renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2006; 49: 324-331.
- ¹³⁵ Dimashkieh HH, Lohse CM, Blute ML, Kwon ED, Leibovich BC, Cheville JC. Extranodal extension in regional lymph nodes is associated with outcome in patients with renal cell carcinoma. *J Urol* 2006; 176: 1978-1982.
- ¹³⁶ 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.
- ¹³⁷ Flanigan RC, Salmon SE, Blumenstein BA, et al. Nephrectomy followed by interferon alfa-2b compared with interferon alfa-2b alone for metastatic renal cell cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 1655-1659.
- ¹³⁸ Mickisch GH, Garin A, van Poppel H, de Prijck L, Sylvester R. Radical nephrectomy plus interferon-alfa-based immunotherapy compared with interferon alfa alone in metastatic renal-cell carcinoma: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358: 966-970.

- ¹³⁹ Flanigan RC, Mickisch G, Sylvester R, Tangen C, van Poppel H, Crawford ED. Cytoreductive nephrectomy in patients with metastatic renal cancer: a combined analysis. *J Urol* 2004, 171: 1071-1076.
- ¹⁴⁰ Bretheau D, Lechevallier E, de Fromont M, Sault MC, Rampal M, Coulange C. Prognostic value of nuclear grade of renal cell carcinoma. *Cancer* 1995; 76: 2543-2549.
- ¹⁴¹ Ficarra V, Righetti R, Martignoni G, et al. Prognostic value of renal cell carcinoma nuclear grade: multivariate analysis of 333 cases. *Urol Int* 2001; 67: 130-134.
- ¹⁴² Tsui KH, Shvarts O, Smith RB, Figlin RA, deKernion JB, Beldegrun A. 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.
- ¹⁴³ Lohse CM, Blute ML, Zincke H, Weaver AL, Cheville JC. Comparison of standardized and non standardized nuclear grade of renal cell carcinoma to predict outcome among 2,042 patients. *Am J Clin Pathol* 2002; 118:877-886.
- ¹⁴⁴ Storkel S, Eble JN, Adlakhia 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: 987-989.
- ¹⁴⁵ Delahunt B, Eble JN, McCredie MR, Bethwaite PB, Stewart JH, Bilous AM. Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases. *Hum Pathol* 2001; 32: 590-595.
- ¹⁴⁶ Amin MB, Tamboli P, Javidan J, et al. Prognostic impact of histologic subtyping of adult renal epithelial neoplasms: an experience of 405 cases. *Am Surg Pathol* 2002; 26: 281-291.
- ¹⁴⁷ Moch H, Gasser T, Amin MB, Torhorst J, Sauter G, Mihatsch MJ. 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.
- ¹⁴⁸ Chao D, Zisman A, Pantuck AJ, et al. Collecting duct renal cell carcinoma: clinical study of a rare tumor. *J Urol* 2002; 167: 71-74.
- ¹⁴⁹ Davis Jr CJ, Mostofi FK, Sesterhenn IA. Renal medullary carcinoma. The seventh sickle cell nephropathy. *Am J Surg Pathol* 1995; 19: 1-11.
- ¹⁵⁰ Patard JJ, Leray E, Rioux-Leclercq N, et al. Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2763-2771.

- ¹⁵¹ Cangiano T, Liao J, Naitoh J, Dorei F, Figlin F, Belldegrun A. Sarcomatoid renal cell carcinoma: biologic behaviour, prognosis and response to combined surgical resection and immunotherapy. *J Clin Oncol* 1999; 17: 523-528.
- ¹⁵² 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.
- ¹⁵³ Sengupta S, Lohse CM, Leibovich BC, et al. Histologic coagulative tumor necrosis as a prognostic indicator of renal cell carcinoma aggressiveness. *Cancer* 2005; 104: 511-520.
- ¹⁵⁴ Uzzo RG, Cherullo EE, Myles J, Novick AC. Renal cell carcinoma invading the urinary collecting system: implications for staging. *J Urol* 2002; 167: 2392-2396.
- ¹⁵⁵ Palapattu GS, Pantuck AJ, Dorey F, Said JW, Figlin RA, Belldegrun AS. Collecting system invasion in renal cell carcinoma: impact on prognosis and future staging strategies. *J Urol* 2003; 170: 768-762.
- ¹⁵⁶ Terrone C, Cracco C, Guercio S, et al. Prognostic value of the involvement of the urinary collecting system in renal cell carcinoma. *Eur Urol* 2004; 46: 472-476.
- ¹⁵⁷ 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.
- ¹⁵⁸ Gonçalves PD, Srougi M, Dall'ilio MF, Leite KR, Ortiz V, Hering F. Low clinical stage renal cell carcinoma: relevance of microvascular tumor invasion as a prognostic parameter. *J Urol* 2004; 172: 470-474.
- ¹⁵⁹ 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 renal cell carcinoma. *J Urol* 2006; 175(Suppl.):241.
- ¹⁶⁰ Fukunaga A, Miyamoto M, Cho Y, et al. CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes together with CD4+ tumor-infiltrating lymphocytes and dendritic cells improve the prognosis of patients with pancreatic adenocarcinoma. *Pancreas* 2004; 28:26-31.
- ¹⁶¹ Eerola AK, Soini Y, Paakko P, A high number of tumor infiltrating lymphocytes are associated with a small tumor size, low tumor stage, and favorable prognosis in operated small cell lung carcinoma. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1875-1881.
- ¹⁶² Zhang L, Conejo-García JR, Katsaros D, et al. Intratumoral T cells, recurrence and survival in epithelial ovarian cancer. *N Engl J Med* 2003; 348: 203-213.

- ¹⁶³ Kolbeck PC, Kaveggia FF, Johansson SL, Grune MT, Taylor RJ. The relationships among tumor-infiltrating lymphocytes, histopathologic findings, and long-term clinical follow-up in renal cell carcinoma. *Mod Pathol* 1992; 5: 420-425.
- ¹⁶⁴ Igarashi T, Takahashi H, Tobe T, et al. Effect of tumor infiltrating lymphocyte subsets on prognosis and susceptibility to interferon therapy in patients with renal cell carcinoma. *Urol Int* 2002; 69: 51-56.
- ¹⁶⁵ Nakano O, Sato M, Naito Y, et al. Proliferative activity of intratumoral CD8(+) T-lymphocyte as a prognostic factor in human renal cell carcinoma: clinicopathologic demonstration of antitumor immunity. *Cancer Res* 2001; 61: 5132-5136.
- ¹⁶⁶ Bromwich EJ, McArdle PA, Canna K, et al. The relationship between T-lymphocyte infiltration, stage, tumor grade and survival in patients undergoing curative surgery for renal cell cancer. *Br J Cancer* 2003; 89: 1906-1908.
- ¹⁶⁷ Magyarlaki T, Buzogany I, Kaiser L, et al. prognostic histological and immune markers of renal cell carcinoma. *Pathol Oncol Res* 2001; 7: 118-124.
- ¹⁶⁸ Webster WS, Lose CM, Thompson RH, et al. Mononuclear cell infiltration in clear-cell renal cell carcinoma independently predicts patient survival. *Cancer* 2006; 107: 46-53.
- ¹⁶⁹ Mani S, Todd MB, Katz K, Poo WJ. Prognostic factors for survival in patients with metastatic renal cancer treated with biological response modifiers. *J Urol* 1995; 154: 35-40.
- ¹⁷⁰ Shvarts O, Lam JS, Kim HL, Han KR, Figlin R, Belldegrun A. 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: 867-870.
- ¹⁷¹ Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer: back to Virchow? *Lancet* 2001; 357: 539-545.
- ¹⁷² Fujikawa K, Matsui Y, Oka H, Fukuzawa S, Takeuchi H. Serum C-reactive protein level and the impact of cytoreductive surgery in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 1999; 162: 1934-1937.
- ¹⁷³ Casamassima A, Picciariello M, Quaranta M, et al. C-reactive protein: a biomarker of survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with subcutaneous interleukin-2 immunotherapy. *J Urol* 2005; 173: 52-55.
- ¹⁷⁴ Komai Y, Saito K, Sakai K, Marimoto S. Increased preoperative serum C-reactive protein level predicts a poor prognosis in patients with localized renal cell carcinoma. *BJU Int* 2007; 99: 77-80.

- ¹⁷⁵ Ito K, Asano T, Yoshii H, Satoh A, Sumitomo M, Hayakawa M. Impact of thrombocytosis and C-reactive protein elevation on the prognosis for patients with renal cell carcinoma. *Int J Urol* 2006; 13: 1365-1370.
- ¹⁷⁶ Costes V, Liautard J, Picot MC, et al. Expression of the interleukin 6 receptor in primary renal cell carcinoma. *J Clin Pathol* 1997; 50: 85-840.
- ¹⁷⁷ Negrier S, Perol D, Menetrier-Caux C, et al. Interleukin-6, interleukin-10 and vascular endothelial growth factor in metastatic renal cell carcinoma: prognostic value of interleukin-6 from the Groupe Francais d'Immunotherapie. *J Clin Oncol* 2004; 22: 2371-2378.
- ¹⁷⁸ Lehmann J, Retz M, Nurnberg N, et al. The superior prognostic value of humoral factors compared with molecular proliferation markers in renal cell carcinoma. *Cancer* 2004; 101: 1552-1562.
- ¹⁷⁹ Sengupta S, Lohse CM, Cheville JC, et al. The preoperative erythrocyte sedimentation rate is an independent prognostic factor in renal cell carcinoma. *Cancer* 2006; 106: 04-312.
- ¹⁸⁰ Kim HL, Belldegrun AS, Freitas DG, et al. Paraneoplastic signs and symptoms of renal cell carcinoma: implications for prognosis. *J Urol* 2003; 170: 1742-1746.
- ¹⁸¹ Kattan MW, Reuter V, Motzer RJ, Katz J, Russo P. A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma. *J Urol* 2001; 166: 63-67.
- ¹⁸² Symbas NP, Townsend MF, El-Galley R, Keane TE, Grahm SD, Petros JA. Poor prognosis associated with thrombocytosis in patients with renal cell carcinoma. *BJU Int* 2000; 86: 203-207.
- ¹⁸³ Gogus C, Baltaci S, Filiz E, Elhan A, Beduk Y. Significance of thrombocytosis for determining prognosis in patients with localized renal cell carcinoma. *Urology* 2004; 63: 447-450.
- ¹⁸⁴ Yang XJ, Sigimura J, Schafernak KT, et al. Classification of renal neoplasms based on molecular signatures. *J Urol* 2006; 175: 2302-2306.
- ¹⁸⁵ 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.
- ¹⁸⁶ Kononen J, Bubendorf L, Kallioniemi A, et al. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nat Med* 1998; 4: 844-847.

- ¹⁸⁷ Wykoff CC, Beasley NJ, Watson PH, et al. Hypoxia-inducible expression of tumor-associated carbonic anhydrases. *Cancer Res* 2000; 60: 7075-7083.
- ¹⁸⁸ Grabmaier k, Adw MC, Verhaegh GW, Schalken JA, Oosterwijk E. Strict regulation of CAIX (G250/MN) by HIF-1alfa in clear cell renal cell carcinoma. *Oncogene* 2004; 23: 5624-5631.
- ¹⁸⁹ Pastorekova S, Parkkila S, Parkkila AK, et al. Carbonic anhydrase IX, MN/CA IX: analysis of stomach complementary DNA sequence and expression in human and rat alimentary tracts. *Gastroenterology* 1997; 112: 398-408.
- ¹⁹⁰ McKiernanJM, Buttyan R, Bander NH, et al. Expression of the tumor-associated gene MN: a potential biomarker for human renal cellcarcinoma. *Cancer Res* 1997; 57: 2362-2365.
- ¹⁹¹ Murakai Y, Kanda K, Tsuji M, Kanayama H, Kagawa S. MN/CA9 gene expression as a potential biomarker in renal cell carcinoma. *BJU Int* 1999; 83: 743-747.
- ¹⁹² Liao SY, Aurelio ON, Jan K, Zavad J, Stanbridge EJ. Identification of the MN/CA 9 protein as a reliable diagnostic biomarker of clear cell carcinoma of the kidney. *Cancer Res* 1997; 57: 2827-2831.
- ¹⁹³ Bui MH, Visapaa H, Seligson D, et al. Prognostic value of carbonic anhidrase IX and KI67 as predictors of survival for renal clear cell carcinoma. *J Urol* 2004; 171: 2461-2466.
- ¹⁹⁴ Wiesener MS, Munchenhagen PM, Berger I, et al. Constitutive activation of hypoxia-inducible factor-1alpha in clear cell renal carcinomas. *Cancer Res* 2001; 61:5215-5222.
- ¹⁹⁵ Turner KJ, Moore JW, Jones A, et al.Expression of hypoxia inducible factors in human renal cancer: relationship to angiogenesis and to the von Hippel-Lindau gene mutation. *Cacer Res* 2002; 62:57-2961.
- ¹⁹⁶ Lidgren A, Hedberg Y, Grankvist K, Rasmuson T, Vasko J, Ljungberg B. The expression of hypoxia-inducible factor is a favourable independent prognostic factor inrenal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2005; 11:1129-1135.
- ¹⁹⁷ Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669-676.
- ¹⁹⁸ Tannapfel A, Han HA, Katalinic A, Fetkau RJ, et al. Prognostic value of ploidy and proliferation markers in renal cell carcinoma. *Cancer* 1996; 77:164-171.

- ¹⁹⁹ Delahunt B, Bethwaite PB, Thornton A, Ribas JL. Proliferation of renal cell carcinoma assessed by fixation-resistant polyclonal ki67 antibody labelling. *Cancer* 1995; 75:2714-2719.
- ²⁰⁰ Gerdes J, Schwab U, Lemke H, et al. Production of a mouse monoclonal antibody with a human antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983; 31: 13-18.
- ²⁰¹ Key G, Peterson JL, Becker MHG, et al. New antiserum against ki67 antigen suitable for double immunostaining of paraffin wax sections. *J Clin Pathol* 1993; 46: 1080-1084.
- ²⁰² Rioux-Leclercq N, Turlin B, Bansard JY, Patard JJ, Manunta A, et al. Value of immunohistochemical ki-67 and p53 determinations as predictive factors of outcome in renal cell carcinoma. *Urology* 2000; 55: 501-505.
- ²⁰³ Alarcon-Vargas D, Ronai Z. P53-Mdm2—The affair that never ends. *Carcinogenesis* 2002; 23:541-547.
- ²⁰⁴ 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(suppl.1): S25-30.
- ²⁰⁵ Uchida T, Gao JP, Wang CH, Jiang SX, et al. Clinical significance of p53, mdm-2, and bcl-2 in renal cell carcinoma. *Urology* 2002; 59: 615-620.
- ²⁰⁶ Zigeuner R, Ratschek M, Rehak P, Schips L, 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.
- ²⁰⁷ Shvarts O, Seligson D, Lam J, 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.
- ²⁰⁸ Vasavada SP, Novic AC, Williams BR. P53, bcl2, and BAX expression in renal cell carcinoma. *Urology* 1998; 51: 1057-1061.
- ²⁰⁹ Haitel A, Wiener HG, Baethge U, Marberger M, Susani M. Mdm2 expression as a prognostic indicator in clear cell renal carcinoma: comparison with p53 overexpression and clinicopathological parameters. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1840-1844.
- ²¹⁰ Wu X, Bayle H, Olson D, Levine AJ. The p53-mdm-2 autoregulatory feedback loop. *Genes Dev* 1993; 7: 1126-1132.

- ²¹¹ Momand J, Zambetti GP, Olson DC, George DL, Levine AJ. The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation. *Cell* 1992; 69:1237-1245.
- ²¹² Vaux DL, Cory S, Adams JM. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells. *Nature* 1988; 335: 440-442.
- ²¹³ Huang A, Fone PD, Gandour-Edwards R, White RW, et al. Immunohistochemical analysis of Bcl-2 protein expression in renal cell carcinoma. *J Urol* 1999; 162: 610-613.
- ²¹⁴ Itoi T, Yamana K, Biblim V, Takahashi A, Tomita F. Impact of frequent Bcl-2 expression on better prognosis in renal cell carcinoma patients. *Br J Cancer* 2004, 90: 200-205.
- ²¹⁵ Lipponen P, Eskelinen M, Syrjänen K. Expression of tumor-suppressor gene Rb, apoptosis-suppressing protein bcl-2 and c-myc have no independent prognosis value in renal adenocarcinoma. *Br J Cancer* 1995, 71: 863-867.
- ²¹⁶ 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: 179-184.
- ²¹⁷ Altieri DC. Survivin in apoptosis control and cell cycle regulation in cancer. *Prog Cell Cycle Res* 2003; 5: 447-452.
- ²¹⁸ Sah NK, Khan Z, Khan GJ et al. Structural, functional and therapeutic biology of surviving. *Cancer Lett* 2006; 244:164-61.
- ²¹⁹ Parker AS, Kosari F, Lohse CM, et al. High expression levels of surviving protein independently predict a poor outcome for patients who undergo surgery for clear cell carcinoma. *Cancer* 2006; 107. 37-45.
- ²²⁰ Franke TF, Kaplan DR, Cantley LC. PI3K: downstream AKTion blocks apoptosis. *Cell* 1997; 88: 435-437.
- ²²¹ Itoh N, Semba S, Ito M, et al. Phosphorylation of Akt/PKB is required for suppression of cancer cell apoptosis and tumor progression in human colorectal carcinoma. *Cancer* 2002; 94: 3127-3134.
- ²²² Kanamori Y, Kigawa J, Itamochi H, et al. Correlation between loss of PTEN expression and Akt phosphorylation in endometrial carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 892-895.
- ²²³ Ringel MD, Hayre N, Saito J et al. Overexpression and overactivation of Akt in thyroid carcinoma. *Cancer Res* 2001; 61:6105-6111.

- ²²⁴ Salvesen HB, Stefansson I, Kalvenes M, et al. Loss of PTEN expression is associated with metastatic disease in patients with endometrial carcinoma. *Cancer* 2002; 94: 2185-2191.
- ²²⁵ Bose S, Crane A, Hibshoosh H, et al. Reduced expression of PTEN correlates with breast cancer progression. *Hum Pathol* 2002; 33: 405-409.
- ²²⁶ Li J, Yen C, Liaw D, Podsypanina K, Bose S, et al. PTEN, a putative protein tyrosin phosphatase gene mutated in human brain, breast and prostate cancer. *Science* 1997; 275(508): 1943-1947.
- ²²⁷ 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; 91: 219-224.
- ²²⁸ 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: 3841-3846.
- ²²⁹ Brenner W, Farber G, Herget T, Lehr HA, Hengstler JG, Thuroff JW. Loss of tumor suppressor protein PTEN during renal carcinogenesis. *Int J Cancer* 2002; 99:53-57.
- ²³⁰ Kim HL, Seligson D, L X, et al. Using tumor markers to predict the survival of patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 2005; 173: 1496-1501.
- ²³¹ Pantuck A, Seligson DB, Klatte T, Yu H, Leppert JT, More L, O’Toole T, Gibbons J, Beldegrun AS, Figlin RA. Prognostic relevance of the mTOR pathway in renal cell carcinoma. Implications for molecular patient selection for targeted therapy. *Cancer* 2007; 109:2257-2267.
- ²³² Rudzki Z, Jothy S. CD44 and the adhesion of neoplastic cells. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 1997; 50: 57-71.
- ²³³ Paradis V, Ferlicot S, Grannam E, Zeimoura L, Blanchet P, Eschwege P, Jardin A, Benoit G, Bedossa P. CD44 is an independent prognostic factor in conventional renal cell carcinomas. *J Urol* 1999; 161(6):1984-1987.
- ²³⁴ Yildiz E, Gokce G, Kilicarsan H, Ayan S, Goze OF, Gultekin EY. 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(7): 187-1093.
- ²³⁵ Gilcrease MZ, Guzman-Paz M, Niehans G, Cherwitz D, McCarthy JB, Albores-Saavedra J. Correlation of CD44 expression in renal clear cell carcinomas with subsequent tumor progression or recurrence. *Cancer* 1999; 86: 2320-2326.

- ²³⁶ Kallakury BV, Karikehalli S, Halolu A, Sheehan CE, Azumi N, Ross JS. Increased expression of matrix metalloproteinases 1 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.
- ²³⁷ Miyata Y, Iwata T, Ohba K, Kanda S, Nishikido M, Kanetake H. Expression of matrix metalloproteinase-7 on cancer cells and tissue endothelial cells in renal cell carcinoma: Prognostic implications and clinical significance for invasion and metastasis. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 6998-7003.
- ²³⁸ Peltomaki P. Deficient ONA mismatch repair: a common etiologic factor for colon cancer. *Hum Mol Genet* 2001.
- ²³⁹ Deguchi M, Shiina H, Igawa M et al. DNA mismatch repair genes in renal cell carcinoma. *J Urol* 2003; 169(6):2365-71.
- ²⁴⁰ Teloken PE, Thompson RH, Tickoo SK et al. Prognostic impact of histological subtype on surgically treated localized renal cell carcinoma. *J Urol* 2009; 182: 2132-2136.
- ²⁴¹ Karakiewicz PI, Briganti A, Chun FK et al. Multiinstitutional validation of a new renal cancer-specific nomogram. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1316-1322.
- ²⁴² Delahunt B. Advances and controversies in grading and staging of renal cell carcinoma. *Mod Pathol* 2009; s24-s36.
- ²⁴³ Ficarra V, Martignoni G, Maffei N et al. Original and reviewed nuclear grading according to the Fuhrman system: a multivariable analysis of 388 patients with conventional renal cell carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 68-75
- ²⁴⁴ Kim H, Cho NH, Kim D. Renal cell carcinoma in South Korea: a multicenter study. *Hum Pathol* 2004; 35: 1556-1563.
- ²⁴⁵ 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.
- ²⁴⁶ Sika-Paotonu D, Bethwaite BD, McCredie MRE et al. Nucleolar grade but not Fuhrman grade is applicable to papillary renal cell carcinoma. *Am J Sur Pathol* 2006; 30: 1091-1096.
- ²⁴⁷ Delahunt B, Sika-Paotonu D, Bethwaite BD et al. Fuhrman grading is not appropriate for chromophobe renal cell carcinoma. *Am J Sur Pathol* 2007; 31: 957-960.
- ²⁴⁸ Katz MD, Serrano MF, Grubb RL et al. Percent microscopic tumor necrosis and survival after curative surgery for renal cell carcinoma. *J Urol* 2010; 183: 909-914.

- ²⁴⁹ Klatte T, Said J, Martino M et al. Presence of tumor necrosis is not a significant predictor of survival in clear cell carcinoma : higher prognostic accuracy of extent based rather than presence/absence classification. *J Urol* 2009; 181: 1558-1564
- ²⁵⁰ 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
- ²⁵¹ Sorbellini M, Kattan MW, Snyder ME et al. A postoperative prognostic nomogram predicting recurrence for patients with conventional clear cell renal cell carcinoma. *J Urol* 2005; 173: 48-51
- ²⁵² Isbarn H, Patard JJ, Lughezzani G et al. Limited prognostic value of tumor necrosis in patients with renal cell carcinoma. *J Urol* 2010; 75(6): 1378-1384.
- ²⁵³ Rey J, Leon D, López S, et al. Indicadores pronósticos anatomopatológicos del cáncer de riñón. *Actas Urol Esp* 2010 ; 34 (1) : 71-77
- ²⁵⁴ Foria V, Surendra T, Poller DN et al. Prognostic relevance of extensive necrosis in renal cell carcinoma. *J Clin Pathol* 2005; 58:39-43
- ²⁵⁵ Cheville JC, Blutte ML, Zincke H et al. Stage pT1 conventional (clear cell) renal cell carcinoma: pathological features associated with cancer specific survival. *J Urol* 2001; 166: 453-456.
- ²⁵⁶ Hemmerlen B, Kugler A, Ozisik R et al. Vascular endothelial growth factor expression, angiogenesis, and necrosis in renal cell carcinomas. *Virchows Arch* 2001; 439: 645-652.
- ²⁵⁷ Leibovitch I, Lev R, Mor Y et al. Extensive necrosis in renal cell carcinoma specimens: potential clinical and prognostic implications. *Isr Med Assoc J.* 2001; 3:563-565.
- ²⁵⁸ Brinker DA, Amin MB, de Peralta-Venturina M et al. Extensively necrotic cystic renal cell carcinoma: a clinicopathologic study with comparison to other cystic and necrotic renal cancers. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 988-995
- ²⁵⁹ Jensen HK, Donskov F, Marcussen N et al. presence of intratumoral neutrophils is an independent prognostic factor in localized renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2009; 27:4709-4717
- ²⁶⁰ Mocellin S, Wang E, Marincola FM et al. Cytokines and immune response in the tumor microenvironment. *J Immunother* 2001; 2001; 24: 392-407.

- ²⁶¹ Dong H, Strome SE, Salomao DR et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion (see comment). *Nat Med* 2002; 8: 793-800 (erratum *Nat Med* 2002; 8:1039).
- ²⁶² Crispen PI, Sheinin Y, Roth TJ et al. Tumor cell and tumor vasculature expression of B7-H1 predict survival in clear cell renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008 Aug15;14(16):5150-5
- ²⁶³ 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.
- ²⁶⁴ 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.
- ²⁶⁵ Visapaa 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.
- ²⁶⁶ Tollefson MK, Thompson RH, Sheinin Y et al. Ki67 and coagulative tumor necrosis are independent predictors of poor outcome for patients with clear cell renal cell carcinoma and not surrogates for each other. *Cancer* 2007; 110(4): 783-790.
- ²⁶⁷ Jochum W, Schroeder S, Al-Taha R et al. Prognostic significance of nuclear DNA content and proliferative activity in renal cell carcinomas. A clinicopathologic study of 58 patients using mitotic count, MIB-1 staining and DNA cytophotometry. *Cancer* 1996; 77(3): 514-521.
- ²⁶⁸ Yuba H, Okamura K, Ono Y et al. Growth fractions of human renal cell carcinoma defined by monoclonal antibody ki-67. Predictive values for prognosis. *Int J Urol* 2001; 8(11): 609-614.
- ²⁶⁹ Klatter T, Seligson DB, LaRochelle J et al. Molecular signatures of localized clear cell renal cell carcinoma to predict disease-free survival after nephrectomy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18(3): 894-900.
- ²⁷⁰ Parker AS, Leibovich BC, Lohse CM et al. Development and evaluation of BioScore. A biomarker panel to enhance prognostic algorithms for clear cell renal cell carcinoma. *Cancer* 2009 May 15; 115(10): 2092-2103.
- ²⁷¹ Kallio JP, Hirvikoski P, Helin H et al. Renal cell carcinoma MIB-1, Bax and Bcl-2 expression and prognosis. *J Urol* 2004 Dec; 172 (6 Pt 1):2158-2161.
- ²⁷² Athanassiadou P, Grapsa D, Athanassiades P, et al. The prognostic significance of Cox-2 and survivin expression in ovarian cancer. *Pathol Res Pract* 2008; 204(4): 241-249.

- ²⁷³ Hofmockel G, Wittman A, Dammrich J et al. Expression of p53 and Bcl-2 in primary locally confined renal cell carcinomas: no evidence for prognostic significance. *Anticancer Res* 1996; 16: 3807-3811.
- ²⁷⁴ Sejima T, Miyagawa I. Expression of Bcl-2, p53 oncoprotein, and proliferating cell nuclear antigen in renal cell carcinoma. *Eur Urol* 1999; 35: 242-248.
- ²⁷⁵ Puoch NB, Ehara H, Gotoh et al. Immunohistochemical analysis with multiple antibodies in search of prognostic markers for clear cell renal cell carcinoma. *Urology* 2007; 69: 843-848.
- ²⁷⁶ Bayketin F, Tuna B, Mungan U et al. Significance of P-glycoprotein, p53, and surviving expression in renal cell carcinoma. *Urol Oncol* 2009; Nov 26: 1-6
- ²⁷⁷ Sakai I, Miyake H, Takenaka A et al. Expression of potential molecular markers in renal cell carcinoma: impact on clinicopathological outcomes in patients undergoing radical nephrectomy. *BJU Int* 2009 Apr (Epub ahead of print).
- ²⁷⁸ Gianani R, Jarboe E, Orlicky D et al. Expression of survivin in normal, hiperplastic and neoplastic colonic mucosa. *Hum Pathol* 2001; 32: 119-25.
- ²⁷⁹ Okada E, Murai I, Matsui K et al. Survivin expression in tumor cell nuclei is predictive of a favourable prognosis in gastric cancer patients. *Cancer Lett* 2001; 163: 109-116.
- ²⁸⁰ Yoshida H, Ishiko O, Sumi T et al. Survivin, Bcl-2 and matrix metalloproteinase-2 enhance progresion of clear cell and serous-type ovarian carcinomas. *In J Oncol* 2001; 19: 537-42.
- ²⁸¹ Ito T, Shiraki K, Sugimoto K, et al. Survivin promotes cell proliferation in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2000, 31: 1080-85.
- ²⁸² Lehner R, Lucia MS, Jarboe EA, et al. Immunohistochemical localization of the IAP protein survivin in bladder mucosa and transitional cell carcinoma. *Appl Immunohistochem* 2002; 10:134-138.
- ²⁸³ Krambeck AE, Dong H, Thompson RH et al. Survivin and B7-H1 are collaborative predictors of survival and represent potential therapeutic targets for patients with renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13(6): 1749-56.
- ²⁸⁴ Buyn SS, Yeo WG, Lee SE, et al. Expression of survivin in renal cell carcinomas: Association with pathological features ad clinical outcome. *Urology* 2007; 69:34-7.
- ²⁸⁵ Bayketin F, Tuna B, Mungan U et al. Significance of P-glycoprotein, p53 and survivin expresión in renal cell carcinoma. *Urol Oncol* 2009 Nov 26(Epub ahead of print).

²⁸⁶ Horiguchi A, Ito K, Sumitomo M, et al. Intratumoral lymphatics and lymphatic invasión are associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in renal cell carcinoma. *Urology* 2008; 71:928-932.

²⁸⁷ Ishikawa Y, Aida S, Tamai S, et al. Significance of lymphatic invasion and proliferation on regional lymph node metastasis in renal cell carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2007; 128:198-207.

²⁸⁸ Leibovich BC, Lohse CM, Crrispen PL et al. Histological subtype is an independent predictor of outcome for patients with renal cell carcinoma. *J. Urol* 2009; 183: 1309-1316.