



## Carcinoma renal de células claras. Expresión inmunohistoquímica del VEGF

Sandra Jimenez Motilla \*, Manuel Gonzalez Devesa \*

\* Departamento de Patología. Universitat de Valencia ESPAÑA

### Resumen

Es sabido que en la mayoría de carcinomas renales de células claras se produce inactivación del gen supresor VHL, dando lugar a una sobreexpresión del VEGF. Las terapias con agentes directos contra las proteínas del VEGF o del receptor del VEGF han demostrado inicialmente una actividad clínica en el carcinoma renal metastásico. Puesto que el tratamiento directo contra el VEGF parece tener una fuerte racionalidad biológica, como se ha demostrado en diversos ensayos clínicos, se plantea la hipótesis de determinar el grado de expresión del VEGF en tumores renales de células claras, con la intención establecer grupos de tumores en los que pueda ser más eficaz este tipo de tratamiento.

### Introducción

Los recientes avances en el desarrollo de las terapias diana para el tratamiento del cáncer han aportado una nueva esperanza en la evolución de los pacientes en una amplia variedad de tumores. Uno de los temas que mayor interés han despertado ha sido el desarrollo de agentes inhibidores de la angiogénesis. Mientras que la vascularización de una persona adulta normal es generalmente quiescente, con células endoteliales dividiéndose aproximadamente cada 10 años, los tumores requieren un crecimiento y remodelación vascular constante. Generalmente, los tumores no pueden crecer más allá de 1-2 mm de diámetro sin desarrollar un aporte vascular. Hasta la fecha, se han descrito muchos factores pro- y antiangiogénicos, siendo el más potente de ellos el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Es sabido que en la mayoría de carcinomas renales de células claras se produce inactivación del gen supresor VHL, dando lugar a una sobreexpresión del VEGF. Las terapias con agentes directos contra las proteínas del VEGF o del receptor del VEGF han demostrado inicialmente una actividad clínica en el carcinoma renal metastásico. Puesto que el tratamiento directo contra el VEGF parece tener una fuerte racionalidad biológica, como se ha demostrado en diversos ensayos clínicos, se plantea la hipótesis de determinar el grado de expresión del VEGF en tumores renales de células claras, con la intención establecer grupos de tumores en los que pueda ser más eficaz este tipo de tratamiento.

### Material y Métodos

Material: Para el desarrollo del presente trabajo se han revisado las historias clínicas de 7 pacientes con carcinoma renal de células claras a los que se practicó nefrectomía radical y tratamiento complementario – ver tablas correspondientes a cada caso. Caso 1- 66 años Riñón izquierdo Esporádico Estadio II Caso 2- 59 años Riñón izquierdo Esporádico Estadio IV Caso 3- 61 años Riñón izquierdo Esporádico Estadio IV Caso 4- 64 años Riñón izquierdo Esporádico Estadio II Caso 5- 43 años Riñón izquierdo Esporádico Estadio IV Caso 6- 75 años Riñón derecho Esporádico Estadio I Caso 7 - 63 años Riñón derecho Esporádico Estadio I Se han seleccionado siete casos del servicio de Oncología del Hospital Clínico Universitario de Valencia diagnosticados de carcinoma renal de células claras. Cinco de ellos, casos 1, 2, 3, 4 y 5 son pacientes en estadios II, III o IV en tratamiento en el momento del estudio y los otros dos, casos 6 y 7 en estadio I: Los casos 1 y 2, en estadio III y IV en el momento del diagnóstico, desarrollaron metástasis pulmonares. El caso 3, en estadio IV en el momento del diagnóstico, desarrollo metástasis pulmonares. El caso 4, en estadio II en el momento del diagnóstico, desarrollo metástasis óseas a los dos años y pulmonares un año más tarde. El caso 5, en estadio IV en el momento del diagnóstico, debuto con metástasis cutáneas. Los casos 6 y 7, en estadio I en el momento del diagnóstico, siguen libres de enfermedad un año después. Método Técnica inmunohistoquímica: Tras desparafinar se realiza técnica inmunohistoquímica con el

método estreptavidina-biotina -peroxidasa (LSAB-Dako citomatyon). El método de inmunotinción fue automatizado mediante el sistema Dako Tech-Mate 500 plus. Se realizó recuperación antigénica incubando las preparaciones histológicas en tampón citrato pH 6.0 y tratamiento por calor en autoclave a 1,5 atmosferas durante 3 minutos. El anticuerpo primario utilizado – VEGF de Santacruz Biotechnology (Ca-USA) a una dilución de 1:100. El revelado se realizó con diaminobencidina. Valoración: La valoración de los casos se hizo con un microscopio óptico Leica DMLB con objetivos de 20x y 40x valorando la intensidad de la tinción en +, ++, +++ y el número de células teñidas, diferenciando los siguientes grupos: - Negativo: ausencia o menos del 10% de las células débilmente teñidas (+) - Positivo en membrana entre el 10-40%, el 40-70% y el 70-100%. - Positivo en citoplasma entre el 10-40%, el 40-70% y el 70-100%. Proceso fotográfico: Todos los casos se fotografiaron a 20x y 40x utilizando un microscopio Leica equipado con cámara digital Leitz de 2 megapixels. Las fotos fueron tratadas con Adobe Photoshop ajuntando los niveles de blanco siguiendo el perfil DLS – RGB de Kodak con el fin de que puedan compararse las imágenes obtenidas en los distintos casos. Las fotografías han sido positivadas al mismo tiempo con una papel fotográfico Kodak utilizando un dispositivo DLS de revelado.

## Resultados

Resultados: Patrón de expresión de la tinción para VEGF Patrón Intensidad % Células Caso 1 Riñón Citoplasmático + 40-70% Caso 1 Metástasis Citoplasmático +++ 70-100% Caso 2 Riñón Citoplasmático +++ 70-100% Caso 3 Riñón Citoplasmático + / ++ 70-100% Caso 4 Riñón Citoplasmático + / ++ 70-100% Caso 5 Riñón Citoplasmático ++ 70-100% Caso 5 Metástasis Citoplasmático + / ++ 70-100% Caso 6 Riñón Membranoso + 70-100% Citoplasmático +++ <10% Caso 7 Riñón Membranoso + / +++ 70-100% Patrón de expresión del VEGF en relación con el estadio en el momento del diagnóstico Patrón Estadio AJCC Caso 1 Riñón Citoplasmático III Caso 2 Riñón Citoplasmático IV Caso 3 Riñón Citoplasmático IV Caso 4 Riñón Citoplasmático II Caso 5 Riñón Citoplasmático IV Caso 6 Riñón Membranoso I Caso 7 Riñón Membranoso I Patrón de expresión del VEGF en relación con el grado de Furhman Patrón Grados de Furhman Caso 1 Riñón Citoplasmático 2 Caso 2 Riñón Citoplasmático 2 Caso 3 Riñón Citoplasmático 4 Caso 4 Riñón Citoplasmático 3 Caso 5 Riñón Citoplasmático 2 Caso 6 Riñón Membranoso 2 Caso 7 Riñón Membranoso 1

## Conclusiones

Conclusiones: 1ª- Los cinco casos de carcinoma renal de células claras, que desde su debut o en el transcurso de su evolución, desarrollaron metástasis han mostrado un patrón de tinción citoplasmático en la mayoría de las células. 2º- En los cinco casos metastásicos, el patrón citoplasmático no mostró diferencias significativas en relación con el estadio tumoral en el momento del diagnóstico. 3ª- En estos casos tampoco se ha observado una relación entre la expresión del VEGF y los grados de Furhman. 4ª- El patrón de tinción fue el mismo en los dos casos en los que se ha estudiado el tumor renal y la metástasis pulmonar. 5ª- Los dos casos en estadio I mostraron un patrón de tinción membranoso, aunque uno de los casos, con grado citológico 2 de Furhman, mostró aisladas células con intensa tinción citoplasmática. 6ª- Los resultados obtenidos permiten sugerir el interés de estudiar la expresión del VEGF en los tumores renales de células claras, utilizando series más amplias y comparando los casos en el mismo estadio independientemente de su evolución, lo cual podría permitir separar grupos de tumores en base a la expresión del VEGF, abriendo la posibilidad al beneficio terapéutico de la inhibición del VEGF.