



Técnicas de inmunohistoquímica

Valor diagnóstico de la proteína WT-1 como marcador inmunohistoquímico

J.M. Rodríguez, A. Panizo e I. Sola

Departamento de Anatomía Patológica, Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona.

INTRODUCCIÓN

El gen WT-1 está localizado en el cromosoma 11p13, y se identificó tras encontrar en dicha localización alteraciones citogenéticas de la línea germinal en pacientes con aniridia y tumor de Wilms (1, 2). El gen WT-1 tiene un importante papel en el desarrollo del sistema genitourinario, especialmente en la glomerulogénesis, donde parece estar implicado en la diferenciación epitelial a partir del blastema. El blastema se desarrolla a partir del mesénquima del metanefros. La glomerulogénesis finaliza hacia la semana 36 de la gestación y el blastema no se suele ver antes de esta fecha (1). El gen WT-1 se encuentra inactivado hasta en un 10% de los tumores de Wilms esporádicos y aproximadamente en el 100% de los pacientes con síndrome de Denys-Drash, caracterizado por glomeruloesclerosis mesangial difusa, pseudohermafroditismo masculino y tumor de Wilms. Se ha estudiado la importancia del WT-1 en el mantenimiento de la función glomerular, y el defecto de la proteína WT-1 es un factor básico en la patogénesis de la glomerulopatía en el síndrome de Denys-Drash (1, 2).

El producto del gen WT-1 es una proteína nuclear de 52-54 kDa que contiene cuatro anillos de cinc y está constituida por 448 aminoácidos (1-3). Su principal función es regular la transcripción y habitualmente actúa como gen supresor, aunque también puede ser un activador de la transcripción (1-4). Todas aquellas mutaciones que afecten a la región de anillos de cinc alteran la funcionalidad de esta proteína. Aunque su función no está totalmente clara, el gen WT-1 está implicado en la regulación de factores del crecimiento, como el factor A de crecimiento derivado de las plaquetas, el factor 2 de crecimiento *insulin-like* (IGF2), el factor 1 de estimulación colónica, el factor receptor de estimulación insulínica y de receptores alfa de ácido retinoico. La actividad reguladora del WT-1 en la transcripción depende de su interacción con el p53. Se ha visto en distintos ensayos que en ausencia de p53 el gen WT-1 actúa como factor activador de la transcripción (1-3).

La proteína WT-1 puede detectarse mediante técnicas inmunohistoquímicas en muestras fijadas en formol e incluidas en parafina. Como condiciones básicas para obtener buenos resultados requiere no utilizar material de

autopsia y controlar la fijación del material, así como la recuperación antigénica por calor (microondas, *buffer* 10 mmol/l de citrato, pH 7) (1-6). Se han generado anticuerpos monoclonales frente a la región carboxiterminal (clon C-19, Santa-Cruz) o frente a la región aminoterminal del gen WT-1 (clon F-6, Santa-Cruz y clon 6F-H2, Dako). Los anticuerpos frente a WT-1 (clon 6F-H2, F6, C-19) inmunolocalizan la proteína WT-1 en el núcleo de las células (1, 6).

La expresión de WT-1 está presente principalmente en tejidos mesenquimales (1-6). Durante el desarrollo embrionario el WT-1 se expresa en diferentes órganos como el riñón (metanefros, mesonefros, especialmente en los podocitos glomerulares), bazo (células estromales), gónadas (células de Sertoli, células de la granulosa), decidua (células deciduales de la decidua basal) y mesotelio. En tejidos adultos el gen WT-1 también se expresa en testículo (células de Sertoli), ovario (células de la granulosa), útero (endometrio), pleura (células mesoteliales), bazo (células estromales) y riñón (epitelio glomerular).

La expresión de la proteína WT-1 se comenzó a estudiar en tumores renales pediátricos (tumor de Wilms) y en el desarrollo del sistema genitourinario. Se ha visto que la proteína WT-1 se detecta en tejidos renales fetales (metanefros, mesonefros) a lo largo de toda la gestación (1).

Se ha demostrado una alta expresión nuclear en el componente epitelial y de blastema del tumor de Wilms, mientras que el componente estromal del tumor de Wilms suele ser negativo o débilmente positivo. Además la expresión del WT-1 se ha visto en otros tumores renales pediátricos, como ocurre en el nefroblastoma quístico, en restos nefrogénicos perilobares y en el tumor rabdoide (1). En el resto de tumores renales pediátricos, incluyendo nefromas mesoblásticos, sarcomas de células claras y neuroblastomas, no se ha encontrado expresión del WT-1 (1).

En la actualidad se está estudiando el valor como marcador inmunohistoquímico del WT-1 en distintos tumores que plantean un difícil diagnóstico diferencial, como ocurre con los mesoteliomas malignos y el adenocarcinoma de pulmón. Se ha visto que la mayoría de los mesoteliomas malignos (70% a 75%) presentan una intensa inmunorreactividad nuclear frente a la proteína WT-1; en cambio, los adenocarcinomas de pulmón no muestran inmunorreactividad nuclear frente a WT-1 o bien es muy débil (20%). Por tanto, la inmunorreactividad nuclear del WT-1 se puede considerar un buen marcador de mesotelioma (4, 6). Además de ayudar al diagnóstico, la expresión de la proteína WT-1 en los mesoteliomas nos ayuda a conocer el grado de diferenciación del tumor. La expresión nuclear del WT-1 es más fuerte en los mesoteliomas de tipo epitelial que en aquellos con un patrón morfológico bifásico o sarcomatoide. Desde



Figura 1. Control positivo: tinción nuclear de las células de Sertoli de testículo para WT-1 (original, WT-1 $\times 100$).

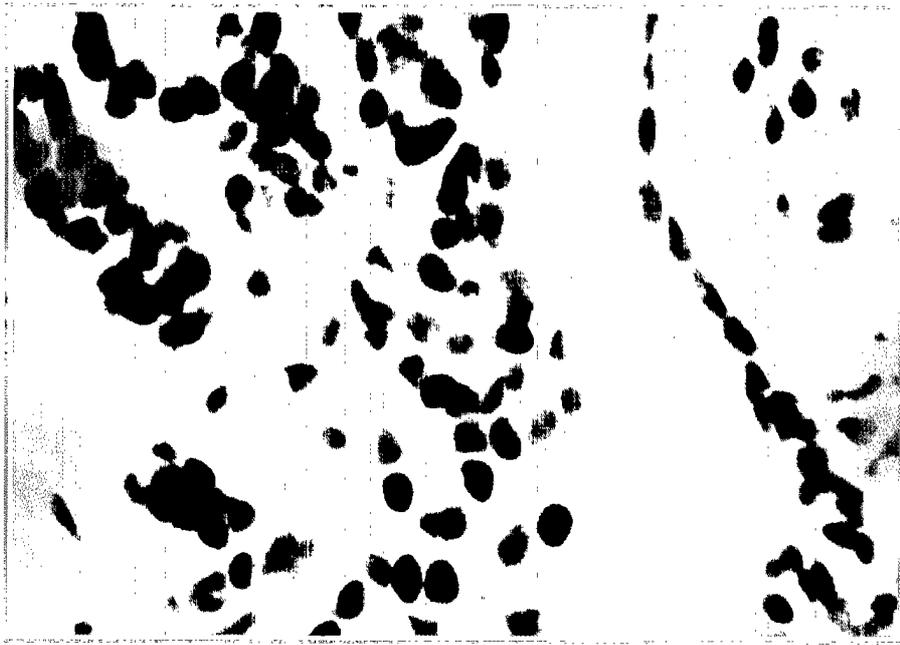


Figura 2. Positividad nuclear intensa en el mesotelioma maligno para WT-1 (original, WT-1 $\times 400$).

un punto de vista pronóstico no se ha visto correlación entre la expresión de WT-1 y una mayor supervivencia de los pacientes con mesotelioma, pero su expresión refleja el estado de diferenciación del tumor y puede ayudar a conocer mejor la etiopatogenia de los tumores mesoteliales (3).

La expresión nuclear del WT-1 también ayuda en gran medida al diagnóstico diferencial entre tumores de células pequeñas, especialmente entre Ewing/PNET y tumor desmoplásico de célula redonda. El tumor desmoplásico de células pequeñas presenta una translocación cromosómica recíproca, $t(11;22)(p13;q12)$, que resulta de la fusión de los genes del tumor de Wilms y el sarcoma de Ewing. En este caso la expresión es del 100% de los tumores desmoplásicos estudiados y del 0% de Ewing/PNET estudiados (5). El tumor desmoplásico de células pequeñas está estrechamente asociado con el mesotelio y muestra evidencia inmunohistoquímica de diferenciación epitelial (1).

También se ha estudiado desde un punto de vista inmunohistoquímico el WT-1 en otros tumores, y se expresa en la mayoría de las leucemias agudas (7, 8), en tumores de los cordones sexuales-estroma (9) y en adenocarcinomas de ovario. En concreto, el adenocarcinoma seroso muestra grados más altos de expresión de WT-1 que el resto de los subtipos, lo que sugiere que la expresión de WT-1 está relacionada con la diferenciación celular (10).

En resumen, el valor diagnóstico del gen WT-1 como marcador inmunohistoquímico está siendo cada vez mayor, principalmente en el diagnóstico diferencial de tumores que morfológicamente pueden ser indistinguibles, como ocurre con algunos mesoteliomas y adenocarcinomas de pulmón. Además, la expresión del WT-1 nos permite conocer el estado de diferenciación del tumor (mayor expresión en mesoteliomas epiteliales y ausencia de expresión en áreas de anaplasia en el tumor de Wilms) (1, 3), y quizás en un futuro no lejano con su ayuda podamos esclarecer más la etiopatogenia de distintos tumores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Charles AK, Mall S, Watson J, Berry PJ. *Expression of the Wilm's tumour gene WT1 in the developing human and in paediatric renal tumours: An immunohistochemical study*. Mol Pathol 1997; 50(3): 138-144.
2. Baudry D, Hamelin M, Cabanis MO y cols. *WT1 splicing alterations in Wilm's tumors*. Clin Cancer Res 2000; 6(10): 3957-3965.
3. Kumar-Singh S, Segers K, Rodeck U y cols. *WT1 mutation in malignant mesothelioma and WT1 immunoreactivity in relation to p-53 and*

- growth factor receptor expression, cell-type transition, and prognosis.* J Pathol 1997; 181(1): 67-74.
4. Oates J, Edwards C. *HBME-1, MOC-31, WTI and calretinin: An assessment of recently described markers for mesothelioma and adenocarcinoma.* Histopathol 2000; 36: 341-347.
 5. Barnoud R, Sabourin JC, Pasquier D y cols. *Immunohistochemical expression of WTI by desmoplastic small round cell tumor: A comparative study with other small round cell tumors.* Am J Surg Pathol 2000; 24(6): 830-836.
 6. Nelson G, Ordóñez MD. *Value of thyroid transcription factor-1, E-cadherin, BGS, WTI, and CD44S immunostaining in distinguishing epithelial pleural mesothelioma from pulmonary and nonpulmonary adenocarcinoma.* Am J Surg Pathol 2000; 24(4): 598-606.
 7. Miwa H, Beran M, Saunders GF. *Expression of the Wilm's tumor gene (WT1) in human leukemias.* Leukemia 1992; 6(5): 405-409.
 8. Menssen HD, Renkl HJ, Rodeck U, Kari C, Schwartz S, Thiel E. *Detection by monoclonal antibodies of the Wilm's tumor (WT1) nuclear protein in patients with acute leukemia.* Int J Cancer 1997; 70(5): 518-523.
 9. Coppes MJ, Ye Y, Rackley R y cols. *Analysis of WTI in granulosa cell and other sex cord-stromal tumors.* Cancer Res 1993; 53(12): 2712-2714.
 10. Shimizu M, Toki T, Takagi Y, Konishi I, Fujii S. *Immunohistochemical detection of the Wilm's tumor gene (WT1) in epithelial ovarian tumors.* Int J Gynecol Pathol 2000; 19(2): 158-163.