

## Expresión inmunohistoquímica de CD117 (c-kit) en 75 tumores de células renales

Diana Aguilar-León<sup>1,2</sup>, Gabriela del Ángel-Millán<sup>1</sup>, Iván Zepeda-Quiroz<sup>1</sup> y Danny Soria-Céspedes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Patología Quirúrgica y Molecular, Centro Médico ABC (The American British Cowdray Medical Center), México, D.F.

<sup>2</sup>Departamento de Patología Quirúrgica, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, México, D.F.

### Resumen

**Objetivos:** c-kit codifica una proteína transmembrana con actividad tirosina cinasa c-kit, cuya expresión ha sido identificada en varias neoplasias. Se analizó la expresión inmunohistoquímica de c-kit en tumores de células renales.

**Material y métodos:** Se obtuvieron 75 tumores de células renales del archivo de Patología Quirúrgica y Molecular del Centro Médico ABC de la ciudad de México, en el periodo comprendido entre 2001 y 2011. Se seleccionó un bloque de parafina representativo y se realizó CD117 (c-kit) por inmunohistoquímica. La positividad por inmunohistoquímica se analizó según la localización, intensidad y porcentaje. **Resultados:** c-kit fue positivo en 20 casos (26.66%); todos los oncocitomas y los carcinomas cromófobos fueron positivos. El 8.27% de los carcinomas renales de células claras convencionales mostró positividad citoplasmática y un caso de carcinoma papilar fue positivo. En el carcinoma cromófobo, el c-kit fue positivo en la membrana y el 44.44% mostró positividad combinada. En los oncocitomas, cuatro casos mostraron positividad citoplasmática, con tinción heterogénea y menos intensa que en el carcinoma cromófobo. **Conclusiones:** c-kit es un marcador útil en el diagnóstico diferencial del carcinoma cromófobo y oncocitoma versus otros tumores de células renales. También es importante definir la localización, la intensidad y el porcentaje de positividad en el diagnóstico diferencial entre carcinoma cromófobo y oncocitoma.

**PALABRAS CLAVE:** Carcinoma cromófobo. Oncocitoma. c-kit.

### Abstract

**Objective:** c-kit encodes the membrane-bound tyrosine kinase c-kit, whose expression has been identified in several human neoplasms. We analyzed the immunohistochemical expression of c-kit in renal cell tumors. **Methods:** 75 cases of renal cell tumors were obtained from the surgical pathology archives at the ABC Medical Center in Mexico, for the period 2001 to 2011. We selected one representative paraffin block of the tumor and immunohistochemical staining for CD117 (c-kit) was performed. Immunopositivity was analyzed according cell location, intensity and percentage.

**Results:** c-kit was positive in 20 cases (26.66%), all the oncocytomas and chromophobe renal cell carcinoma were positive. A total of 8.27% of conventional clear cell renal cell carcinomas showed cytoplasmic positivity and one case of papillary renal cell carcinoma was positive. In chromophobe renal cell carcinoma c-kit was positive in the membrane and 44.44% showed combined staining. In oncocytoma four cases showed cytoplasmic positivity, with heterogeneous and less intense staining than chromophobe renal cell carcinoma. **Conclusion:** c-kit is a useful marker for the diagnosis of chromophobe renal cell carcinoma and oncocytoma vs. other renal cell tumors. Also it is important to define the cell location, intensity, and percentage of neoplastic cells for the differential between chromophobe renal cell carcinoma and oncocytoma. (Gac Med Mex. 2014;150 Suppl 2:156-60)

**Corresponding author:** Danny Soria Céspedes, drsoriac@abchospital.com

**KEY WORDS:** Chromophobe renal cell carcinoma. Oncocytoma. c-kit.

#### Correspondencia:

\*Danny Soria Céspedes

Departamento de Patología Quirúrgica y Molecular

Centro Médico ABC

Sur, 136 116

Col. Las Américas, C.P. 01120, México, D.F.

Email: drsoriac@abchospital.com

Fecha de recepción: 06-02-2014

Fecha de aceptación: 13-02-2014

## Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las neoplasias renales se clasifican según la estirpe celular, donde el grupo más común es el de tumores de células renales, tanto benignos como malignos<sup>1,2</sup>.

Los tumores benignos son el adenoma papilar y el oncocitoma. El primero es la neoplasia más común del epitelio renal tubular, está compuesto por células neoplásicas de bajo grado nuclear, mide menos de 5 mm de eje mayor y presenta alteraciones genéticas similares al carcinoma papilar de células renales (CPCR) tipo 1 y 2<sup>1</sup>. El oncocitoma representa aproximadamente el 5% de las neoplasias renales, se caracteriza por presentar numerosas mitocondrias y está compuesto por una mezcla de células con y sin alteraciones en el cariotipo<sup>1,3</sup>.

El carcinoma de células renales (CCR) representa el 2-3% de las neoplasias en adultos, es la más frecuente en riñón y corresponde al 90% de todos los tumores en este órgano<sup>4</sup>. La mayoría son detectados de forma incidental, por lo que se diagnostican en estadios avanzados, habitualmente con metástasis, y tienen un índice de mortalidad del 52.62%<sup>5</sup>.

Existen diferentes tipos de CCR, cada uno con características morfológicas y moleculares propias. El más común es el carcinoma renal de células claras convencional (CRCC), que representa el 70-80% de los carcinomas renales y en el 98% de los casos tiene una delección en el brazo corto del cromosoma 3 (3p-), alteraciones en el gen de la enfermedad de Von Hippel-Lindau o una translocación cromosómica no equilibrada (3;6, 3;8, 3;11)<sup>6-8</sup>.

El carcinoma papilar de células renales tipo 1 y 2 corresponde al 10-15% de los CCR, se asocia comúnmente a trisomía 7, 16 y 17, así como a pérdida del cromosoma Y en hombres<sup>1,9</sup>.

El carcinoma renal cromófobo (CCr) constituye el 5% de los CCR y se caracteriza por presentar pérdidas de cromosomas, entre las más frecuentes: -1, -2, -6, -10, -13, -17 y -21<sup>10,11</sup>.

Existen otros tipos histológicos menos frecuentes como: carcinoma de los conductos colectores (< 1%), carcinoma medular, CCR asociado a translocación Xp11, CCR asociado a neuroblastoma, carcinoma mucinoso tubular y de células fusiformes, carcinoma tubuloquistico, tumor renal similar a carcinoma folicular de tiroides, así como CCR no clasificado<sup>1,2,12</sup>.

Además de la morfología, en ocasiones se requieren estudios complementarios para definir el subtipo

histológico. La histoquímica (hierro coloidal) puede ser una herramienta útil en los carcinomas cromófobos, aunque existen reportes que mencionan la variabilidad de los resultados debido a la interpretación<sup>11,13,14</sup>.

La inmunohistoquímica es otra herramienta importante en su diagnóstico, ya que puede diferenciar los tipos histológicos, permite definir si el tumor es primario o metastásico e incluso sugerir una alteración genética, como en el carcinoma renal de células claras asociado a translocación<sup>12</sup>. Los anticuerpos más empleados son el *Renal Cell Carcinoma* (RCC), CD10, vimentina, citokeratina 7, alfa metilacil CoA racemasa, anhidrasa carbónica IX, PAX8, proteína S-100 A1, TFE3, etc.<sup>1,13,14</sup>.

Otro marcador de inmunohistoquímica utilizado en el estudio de tumores renales es el CD117 (c-kit), proteína transmembrana con actividad de tirosina cinasa que se expresa de forma constitutiva en diferentes estirpes celulares<sup>15</sup>.

En el presente estudio se analiza la expresión inmunohistoquímica del CD117 (c-kit) en 75 tumores de células renales benignos y malignos.

## Material y métodos

Es un estudio retrospectivo, analítico y descriptivo de tumores de células renales diagnosticados en el Departamento de Patología Quirúrgica y Molecular del Centro Médico ABC de la Ciudad de México, durante el periodo de 2001 a 2011.

Se identificó un total de 129 tumores renales, de los cuales se seleccionaron 75 correspondientes a tumores benignos y malignos de células renales. De cada caso se seleccionó un bloque de parafina representativo para generar siete microarreglos, se cortaron secciones para inmunohistoquímica a 3 micras, que se incubaron a 60 °C, se trataron con xileno e hidrataron con diferentes grados de alcohol hasta agua. Se realizó la recuperación antigénica y la peroxidasa endógena fue bloqueada con el sistema universal de Bio SB.

Se utilizó como anticuerpo primario el CD117/c-kit (CLONA YR145, dilución 1:500 Bio SB, Sta. Bárbara, EE.UU.), el cual se incuba durante 45 min a temperatura ambiente, y para amplificar la señal se empleó el método de biotina-estreptoavidina Bio SB. La reacción se visualizó utilizando diaminobencidina tetraclorhidrato (DAB, Bio-SB). Finalmente fueron contrastados con hematoxilina.

La cuantificación del CD117 se realizó en cinco campos de 40x al azar. Se consideró el sitio celular de expresión (membrana celular, citoplasma o ambos), la intensidad (sin expresión [-], débil [+], moderada [++]

**Tabla 1.** Características de expresión inmunohistoquímica de CD117 en tumores epiteliales renales

	CD117/c-kit	Localización			Intensidad		
		Casos positivos	Membrana	Citoplasma	Ambas	Leve	Moderada
CRCC	5/57 (8.7%)	–	5 (100%)	–	3 (60%)	2 (40%)	–
CCr	9/9 (100%)	5 (55.5%)	–	4 (44.4%)	1 (11.1%)	5 (55.6%)	3 (33.3%)
CPCR	1/4 (25%)	–	1 (100%)	–	–	1 (100%)	–
Oncocitoma	5/5 (100%)	–	4 (80%)	1 (20%)	–	3 (60%)	2 (40%)

e intensa [+++] y el porcentaje de positividad (1-25, 26-50, 51-75 y 76-100%).

Los resultados obtenidos fueron analizados de forma semicuantitativa y cualitativa de acuerdo a la positividad del CD117 y tipo histológico.

## Resultados

El presente estudio incluyó 75 casos, de los cuales 48 (64%) fueron hombres y 27 (36%) mujeres, con una relación hombre mujer de 1.7:1. El rango de edad fue de 26 a 84 años, con una media de  $59 \pm 12.9$ .

Los casos estudiados se clasificaron de acuerdo a los criterios morfológicos de la OMS (2004). El CRCC representó el 76% (57 casos), el carcinoma cromófobo el 12% (9 casos), el oncocitoma el 6.66% (5 casos) y el CPCR tipo 1 el 5.33% (4 casos). No se identificaron otros tipos histológicos.

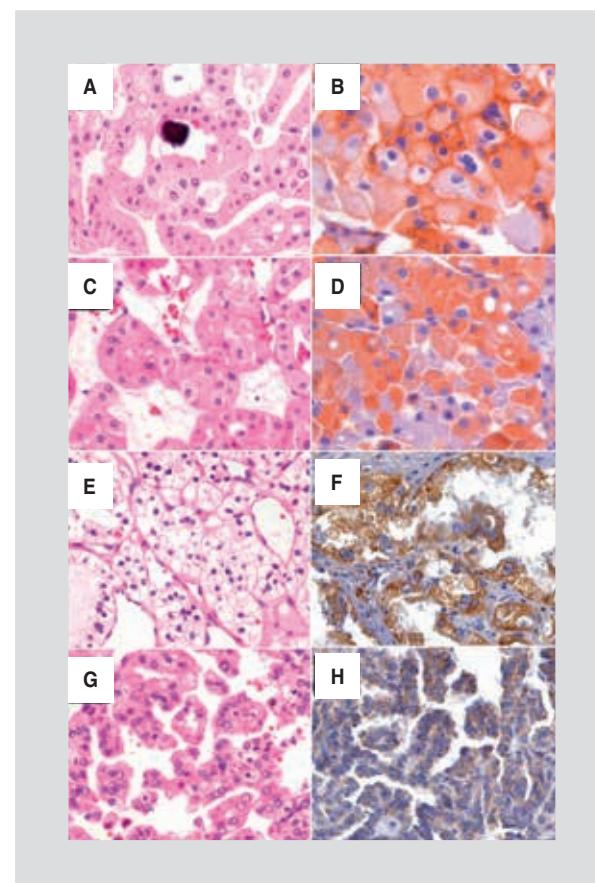
El CD117 fue positivo en el 26.66% de los tumores renales (20 casos). Todos los oncocitomas resultaron positivos (cinco casos), cuatro con positividad citoplasmática y uno con positividad citoplasmática y en membrana celular, y la intensidad fue entre moderada e intensa (Tabla 1 y Fig. 1).

Todos los carcinomas cromófobos fueron positivos (nueve casos), cinco con positividad en la membrana celular, mientras que los cuatro restantes tuvieron positividad en el citoplasma y membrana celular. El porcentaje de células positivas estuvo entre el 25 y el 75%, con variación en la intensidad (Tabla 1 y Fig. 1).

En los casos de CRCC, el 8.7% tuvo positividad citoplasmática (cinco casos), de débil a moderada, con porcentaje de células positivas que varió del 1 al 75% (Tabla 1 y Fig. 1).

## Discusión

El diagnóstico de los tumores renales es multidisciplinario e incluye datos clínicos, estudios de imagen,



**Figura 1.** **A y B:** cortes histológicos de CCr que muestra positividad en membrana celular intensa a CD117 (c-kit) (A: 400x, H y E; B: 400x, CD117). **C y D:** cortes histológicos de oncocitoma que muestran positividad citoplasmática heterogénea para CD117 (c-kit) (C: 400x, H y E; D: 400x, CD117). **E y F:** CRCC con positividad citoplasmática a CD117 (c-kit) (E: 400x, H y E; F: 400x, CD117). **G y H:** CPCR tipo 1, con positividad citoplasmática débil a CD117 (c-kit) (G: 400x, H y E; H: 400x, CD117).

análisis histopatológico y en ocasiones procedimientos de biología molecular<sup>1</sup>.

El diagnóstico histopatológico es sencillo en los casos con morfología clásica; sin embargo, existen diversos tumores que comparten características

morfológicas, especialmente aquellos que tienen citoplasma amplio y eosinófilo (oncocitoma, carcinoma cromófobo variante eosinofílica, carcinoma de células claras con presencia de células granulares, carcinoma papilar con células oncocíticas). En estos casos, es necesario realizar estudios complementarios que incluyan tinciones especiales (hierro coloidal), inmunohistoquímica, microscopia electrónica e incluso estudios moleculares.

Debido a que el comportamiento biológico de cada tipo de tumor es distinto, es fundamental realizar un diagnóstico preciso. El oncocitoma es un tumor benigno de excelente pronóstico; el CRCC y el carcinoma papilar tipo 2 tienen un alto potencial de metástasis; el CPCR tipo 1 y el carcinoma cromófobo son indolentes y de mejor pronóstico; los tumores que tienen cambios sarcomatoides son de alto grado y de mal pronóstico<sup>11,15</sup>.

Se han estudiado diversos anticuerpos para el diagnóstico de los tumores renales, aunque los más utilizados son el RCC, EMA, vimentina, parva-albúmina, citoqueratina 7, MOC31, cadherina, caveolina-1, claudina 7 y 8, MAGE-A3/4, AMY1A, etc.<sup>3,16</sup>.

Un marcador que ha mostrado ser útil es el CD117 (c-kit), proteína transmembrana con actividad de tirosina cinasa codificada por el protooncogén *c-kit* localizado en el cromosoma 4 (4q 11-2)<sup>11</sup>. Esta proteína se encuentra de manera normal en diversos tejidos y su sobreexpresión ha sido descrita en varias neoplasias, como en el tumor del estroma gastrointestinal, en procesos mieloproliferativos, en neoplasias de mastocitos, en melanoma y en seminoma<sup>1</sup>.

En los últimos años ha crecido el interés del estudio de *c-kit* en las neoplasias debido a la introducción de un medicamento que inhibe este receptor, mostrando ser efectivo en el tratamiento de la leucemia mieloide crónica y en los tumores del estroma gastrointestinal<sup>17</sup>.

Yamazaki, et al.<sup>8</sup> analizaron perfiles genéticos por microarreglos en diferentes tipos de CCR y mostraron que el CCR tiene sobreexpresión de *c-kit*, lo que permitiría utilizarlo como un marcador adicional diagnóstico de esta neoplasia. Además, estos autores correlacionaron esta sobreexpresión con la positividad en membrana de *c-kit* por inmunohistoquímica.

Petit, et al.<sup>17</sup> estudiaron la expresión *c-kit* por inmunohistoquímica en 87 tumores renales, y observaron positividad en el 88% de los carcinomas cromófobos y en el 71% de los oncocitomas. El resto de los tumores fueron negativos.

Otro estudio realizado por Huo, et al.<sup>18</sup> mostró sobreexpresión significativa del ARN mensajero de *c-kit* en carcinoma cromófobo y oncocitoma, con positividad

por inmunohistoquímica en el 95% de los carcinomas cromófobos y en el 88% de los oncocitomas. Observaron escasa positividad en angiomiolipomas, en el CPCR y en el CRCC.

Pan, et al.<sup>17</sup> estudiaron la expresión mediante inmunohistoquímica de CD117 en tumores renales y demostraron que el carcinoma cromófobo fue positivo en el 83%, el oncocitoma en el 71% y ningún carcinoma de células claras convencional fue positivo; sin embargo, no detectaron mutación del gen *c-kit* por reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Al igual que en los trabajos anteriores, en el presente estudio el 100% de los carcinomas cromófobos y oncocitomas mostró positividad para CD117 por inmunohistoquímica. Sin embargo, la localización, el porcentaje y la intensidad de la inmunomarcación fue distinta en ambos tumores. En los carcinomas cromófobos todos tuvieron positividad de membrana y cuatro de nueve casos mostraron también tinción citoplasmática. En los oncocitomas solamente un caso mostró positividad combinada (membrana y citoplasma), el resto presentó marcación citoplasmática. En cuanto a la intensidad, la mayor parte de los carcinomas cromófobos fue de moderada a intensa (ocho de nueve casos) con positividad homogénea, difusa y definida en la membrana celular. En cambio, los oncocitomas manifestaron positividad heterogénea, «en parches», con intensidad variable entre moderada e intensa y con poca expresión en membrana celular.

Estas características del tipo de expresión pueden orientar en el diagnóstico diferencial entre ambas neoplasias y, a su vez, sugieren que ambas forman parte de un mismo espectro de lesión originada en células intercaladas del conducto colector<sup>3</sup>.

El resto de los tumores (CRCC y CPCR) tuvo positividad en el citoplasma, heterogénea, con intensidad leve-moderada.

Existen estudios que han analizado la expresión de *c-kit* de acuerdo a la técnica de inmunohistoquímica utilizada, y concluyen que la positividad de membrana debe ser considerada como una expresión verdadera de *c-kit*<sup>19</sup>.

En cuanto a la utilidad de este marcador como blanco terapéutico, Pan, et al.<sup>11</sup> no detectaron mutación de *c-kit* en ninguno de los casos que estudiaron, por lo que su utilidad deberá ser analizada en series con mayor número de casos, y probablemente su expresión sea aplicada sólo para fines de diagnóstico.

Por tanto, CD117 es un marcador útil en el diagnóstico diferencial de carcinoma cromófobo y oncocitoma versus otros tipos de tumores de células renales. La

forma de expresión de este marcador en ambas neoplasias es distinta, por lo que se debe tener en cuenta la localización celular, la intensidad y si la positividad es homogénea o heterogénea. La aplicación para terapia blanco molecular no está del todo clara, por lo que se requieren mayores estudios para valorar su utilidad.

## Bibliografía

1. Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA. World Health Organization classification of tumours. Pathology and Genetics, tumors of the urinary system and male genital organs. IARC Press, 2004.
2. López-Beltran A, Carrasco JC, Cheng L, Scarpelli M, Kirkali Z, Montironi R. 2009 update on the classification of renal epithelial tumors in adults. *Int J Urol.* 2009;16(5):432-43.
3. Jain S, Roy S, Amin M, et al. Amylase a-1A (AMY1A) a novel immuno-histochemical marker to differentiate chromophobe renal cell carcinoma from benign oncocytoma. *Am J Surg Pathol.* 2013;37(12):1824-30.
4. Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2012;62(1):10-29.
5. Bodmer D, Van den Hurk W, Van Groningen JJ, et al. Understanding familial and non-familial renal cell cancer. *Hum Mol Genet.* 2002;11(20):2489-98.
6. Pavlovich CP, Schimdt LS, Phillips JL. The genetic basis of renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am.* 2003;30(3):437-54.
7. Motzer RJ, Bander NH, Nanus DM. Renal-cell carcinoma. *N Eng J Med.* 1996;335(12):865-75.
8. Yamazaki K, Sakamoto M, Ohta T, Kanai Y, Ohki M, Hirohashi S. Over-expression of KIT in chromophobe renal cell carcinoma. *Oncogene.* 2003;22(6):847-52.
9. Linehan WM, Pinto PA, Srinivasan R, et al. Identification of the genes for kidney cancer: opportunity for disease-specific targeted therapeutics. *Clin Cancer Res.* 2007;13(2 Pt 2):671-9.
10. Stec R, Grala B, Maczewski M, Bodnar L, Szczylak C. Chromophobe Renal cell cancer - review of the literature and potential methods of treating metastatic disease. *J Exp Clin Cancer Res.* 2009;28:134.
11. Pan CC, Chen PC, Chiang H. Overexpression of KIT (CD117) in chromophobe renal cell carcinoma and renal oncocytoma. *Am J Clin Pathol.* 2004;121(6):878-83.
12. Argani P, Hicks J, de Marzo AM, et al. Xp11 translocation renal cell carcinoma (RCC): Extended immunohistochemical profile emphasizing novel RCC markers. *Am J Surg Pathol.* 2010;34(9):1295-303.
13. Hammerich KH, Ayala GE, Wheeler TM. Application of immunohistochemistry to the genitourinary system (prostate, urinary bladder, testes and kidney). *Arch Pathol Lab Med.* 2008;132(3):432-40.
14. Pan CC, Chen PC, Ho DM. The diagnostic utility of MOC31, BerEP4, RCC marker and CD10 in the classification of renal cell carcinoma and renal oncocytoma: an immunohistochemical analysis of 328 cases. *Histopathology.* 2004;45(5):452-9.
15. Liang J, Wu YL, Chen BJ, Zhang W, Tanaka Y, Sugiyama H. The C-Kit receptor-mediated signal transduction and tumor-related diseases. *Int J Biol Sci.* 2013;9(5):435-43.
16. Lechpammer M, Resnick MB, Sabo E, et al. The diagnostic and prognostic utility of claudin expression in renal cell neoplasms. *Mod Pathol.* 2008;21(11):1320-9.
17. Petit A, Castillo M, Santos M, Mellado B, Alcover JB, Mallofré C. KIT expression in chromophobe renal cell carcinoma. Comparative immunohistochemical analysis of KIT expression in different renal cell neoplasms. *Am J Surg Pathol.* 2004;28(5):676-8.
18. Huo L, Sugimura J, Tretiakova MS, et al. C-kit expression in renal oncocytomas and chromophobe renal cell carcinomas. *Hum Pathol.* 2005;36(3):262-8.
19. Pan CC, Chen PH. A distinct expression pattern and point mutation of c-KIT in papillary renal cell carcinomas. *Mod Pathol.* 2004;17(11):611-6.