



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**Especialidad Médica en Anatomía Patológica**

**Expresión inmunohistoquímica de TFE3  
y MiTF en angiomiolipomas renales y su  
relación con proteínas del ciclo celular**

**GRADUACIÓN OPORTUNA  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE ESPECIALISTA EN  
ANATOMIA PATOLÓGICA**

**Presenta:**

**Dra. María Verónica Velasco Vales**

**Profesor Titular de Curso:**

**Dr. Carlos Ortiz Hidalgo**

**Asesor de Tesis:**

**Dr. Danny Soria Céspedes**

**Dr. Carlos Ortiz Hidalgo**

**México, D.F, Noviembre del 2014**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **Agradecimientos**

A mis papas y a mi hermano. Son el motor que me permite seguir adelante en todo proyecto. Gracias por vivir paciente y amorosamente junto a mi cada paso de este capítulo.

Al Dr. Ortiz, gran maestro y ejemplo a seguir. Gracias por creer en mi.

Al Dr. Danny, por que sin el nada de esto hubiera sido posible.

Al Dr. Baquera, al Dr. Cesar y a la Dra. Teresita por siempre estar dispuestos a enseñarme.

A Grettel, Lupita, Lucero, Mara y Omar mis primeros maestros, compañeros y amigos. Por estar siempre dispuestos a ayudarme con una sonrisa en la boca.

A todo el departamento de patología por permitirme crecer y desarrollarme como patóloga.

<b>INDICE</b>	<b>Pag.</b>
Resumen .....	4
Abstract .....	5
Planteamiento del Problema .....	6
Justificación .....	7
Hipótesis .....	8
Tipo de estudio .....	9
Criterios de inclusión .....	9
Criterios de exclusión .....	9
Variables dependientes .....	9
Limites .....	9
Variables Independientes .....	9
Introducción .....	10
Objetivo General .....	11
Objetivos Específicos .....	11
Material y Métodos .....	12
Resultados .....	13
Discusión .....	14 - 17
Conclusiones .....	17
Referencias .....	18- 19
Anexos .....	20- 27

## RESUMEN

Los angiomiolipomas renales son tumores mesenquimatosos benignos que forman parte de los “PEComas”. Se conoce un subgrupo con translocación del gen TFE3 (Factor de transcripción E3) y características morfológicas propias.

Es un estudio de ocho casos de angiomiolipomas renales, se realizó inmunohistoquímica con TFE3, MiTF, ciclina D1, p21, p16, p27, p53, p57 y Ki67. Se evaluó positividad nuclear, usando la escala de Allred, considerando mayor de 3 positivo. Se comparó y analizó edad, morfología, expresión del MiTF y proteínas del ciclo celular.

Resultados: se dividieron en TFE3 positivos y negativos. El TFE3 fue positivo en cuatro casos, con edad media de 59.75 años; dos clásicos y dos con predominio de músculo liso. Tres casos positivos a MiTF, todos positivos a ciclina D1, tres positivos a p21 y uno a p27. La p53 y p16 fueron negativas. El TFE3 fue negativo en cuatro casos, la edad media fue 72.5 años; dos clásicos, uno con predominio de músculo liso y uno con predominio de tejido adiposo. Dos casos positivos a MiTF, a ciclina D1, p21 y p53. El resto de los marcadores negativos.

Conclusión: 50% de los angiomiolipomas fueron positivos al TFE3 y 62.5% al MiTF sin morfología distintiva. Esto permite dividirlos en: TFE3 positivo y negativo. Todos los casos TFE3 positivos mostraron inmunomarcación con ciclina D1 y tres fueron positivos al p21. Dos casos TFE3 negativos expresaron ciclina D1 y p21. La función biológica de ciclina D1 y p21 en neoplasias benignas con alteración del TFE3 no está del todo claro.

## ABSTRACT

Renal Angiomiolipoma is a benign mesenchymal tumor, included in the perivascular epithelioid cell (PEComa) family of tumors. There is a subgroup characterized by the translocation of the TFE3 (Transcription factor E3) gene with unique morphology. We studied 8 cases of renal angiomiolipoma with immunohistochemistry for TFE3, MiTF, cyclinD1, p21, p16, p27, p53, p57 and Ki67. Considering nuclear staining more than 3, quantified by Allred score, as positive. We compare and analyzed sex, morphology, MiTF and cell cycle protein expression.

Results: cases were divided in TFE3 positive and negative. Four cases were TFE3 positive, mean age of 59.75 years, two with classic morphology and two with smooth muscle predominance. Three cases were positive for MiTF, all positive for cyclinD1, three for p21 and one for p27. P53 and p16 negative. Four cases were TFE3 negative, mean age of 72.5 years, two with classic morphology, one with smooth muscle predominance and one with adipocytic predominance. Two cases were positive for MiTF, cyclinD1, p21 and p53. The rest of the markers were negative.

Conclusions: 50% of the angiomiolipomas were positive for TFE3 and 62.5% for MiTF, without distinct morphology. This allows to divide them into: TFE3 positive and negative. All of the TFE3 positive were also positive for cyclinD1 and three for p21. Two cases negative to TFE3 were positive to cyclinD1 and p21. The biologic function of cyclinD1 and p21 in benign neoplasias with variations in TFE3 is not entirely clear

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Se ha descrito un grupo de neoplasias denominadas como “tumores asociados a la familia del factor de microoftalmia” que tienen como característica común una alteración en alguno de los factores de transcripción de esta familia (MiTF, TFE3, TFEB y TFEC). Hay estudios que consideran que todos los angiomiolipomas forman parte de estas neoplasias, sin embargo diversos estudios científicos han demostrado que solo un subgrupo de angiomiolipomas puede ser considerados como tumores asociados a la familia del factor de microoftalmia por presentar alteraciones en el factor de transcripción E3 (TFE3). Por tanto, es necesario ampliar el conocimiento desde el punto de vista biológico de los angiomiolipomas, para poder definir si todos tienen alteración en la expresión de los factores de transcripción asociados a la familia de microoftalmia y si muestran variaciones en la expresión inmunohistoquímica de las moléculas del ciclo celular que le confieran características clínicas y/o anatomopatológicas distintivas.

## **JUSTIFICACION**

A pesar de que los angiomiolipomas renales son neoplasias benignas, representan un grupo heterogéneo de tumores tanto desde el punto de vista morfológico como biológico. Por este motivo es importante estudiar y analizar la expresión por inmunohistoquímica de factores de transcripción como el MiTF y TFE3, además de analizar la expresión inmunohistoquímica de moléculas activadoras y supresoras del ciclo celular como ciclina D1, p21, p16, p53, p27 y p57.

## **HIPOTESIS**

No todos los angiomiolipomas renales presentan alteración en la expresión inmunohistoquímica de factores de transcripción asociados a la familia del factor de transcripción de microoftalmia ni incremento o disminución en la expresión inmunohistoquímica de moléculas que regulan el ciclo celular.

## **TIPO DE ESTUDIO**

Es un estudio retrospectivo, descriptivo y analítico.

## **CRITERIOS DE INCLUSION**

- Pacientes con tumores renales con diagnostico histopatológico de angiomiolipoma renal.
- Casos que tengan laminillas y bloques de parafina dentro del archivo del Departamento de Patología Quirúrgica y Molecular del Centro Medico ABC para revisión y estudios de inmunohistoquímica.

## **CRITERIOS DE EXCLUSION**

- Pacientes con tumores renales distintos a angiomiolipomas renales
- Casos que no tengan laminillas y/o bloques de parafina dentro del archivo del Departamento de Patología Quirúrgica y Molecular del Centro Medico ABC para revisión y estudios de inmunohistoquímica.

## **VARIABLES DEPENDIENTES**

Sexo, edad, diagnostico, tipo de resección, lado afectado y predominio de componente histológico.

## **LIMITES**

Tiempo: enero del 2001 a marzo del 2013

Espacio: Centro Medico ABC

Sector: Departamento de Patología Quirúrgica y Molecular

## **VARIABLES INDEPENDIENTES**

Resultados de inmunohistoquímica y enfermedades asociadas.

## INTRODUCCION

Los angiomiolipomas son tumores benignos mesenquimatosos compuestos por una cantidad variable de tejido adiposo, células de músculo liso (epitelioides y ahusadas) y vasos sanguíneos de paredes engrosadas (1). Forman parte de los tumores epiteliales perivasculares (PEComas), que de acuerdo a la organización mundial de la salud (OMS) son neoplasias mesenquimatosas compuestas por células con diferenciación melanocítica y muscular (2).

Además del angiomiolipoma hay otras neoplasias que forman parte de los PEComas como el tumor de células claras “en azúcar” del pulmón y extrapulmonar, la linfangioleiomiomatosis, el tumor de células claras melanocítico del ligamento falciforme/ligamento teres y tumores raros de células claras en otros sitios anatómicos (2, 3, 4, 5). Hasta el momento no se ha identificado la contraparte neoplásica de este tipo de célula (2, 3, 4, 5).

Recientemente se ha descrito un subgrupo de PEComas, que se caracteriza por presentar translocación del gen del factor de transcripción E3 (TFE3), que tiene características propias como: presentarse a menor edad en relación a los PEComas convencionales, no se asocian a esclerosis tuberosa, tienen patrón alveolar y morfología predominantemente epitelioides, muestran positividad débil a marcadores musculares y expresión intensa por inmunohistoquímica al TFE3 (6).

El TFE3 forma parte de la familia del factor de transcripción asociado a microftalmia, que incluye a MiTF, TFEB, TFEC y TFE3. Este gen se ha asociado fisiológicamente a la melanogénesis, sin embargo, por el tiempo de vida corto no es detectado en el tejido normal, solo cuando forma parte de un gen de fusión secundario a translocación que provoca una sobreexpresión de esta proteína que es detectada por inmunohistoquímica (7). La translocación del gen TFE3, localizado en el cromosoma Xp11.2, ha sido descrito principalmente en dos neoplasias: sarcoma alveolar de partes blandas que presenta una  $der(17)t(X;17)(p11;q25)$  con fusión de los genes ASPL-TFE3 y en el carcinoma de células renales con translocación Xp11 que tiene seis translocaciones descritas con la afección constante del gen TFE3 (8). Debido a que estas neoplasias tienen en común la translocación del gen TFE3, han sido englobadas dentro del término de “tumores asociados a la familia del factor de microftalmia”, junto con el melanoma y el sarcoma de células claras.

Algunos autores han estudiado la expresión de moléculas del ciclo celular en tumores asociados a la familia de microftalmia (carcinoma de células renales asociados a translocación) y demostraron que existe una alteración en la expresión de factores que activan (ciclina D1 y ciclina D3) y suprimen (p53, mdm, p16, p21 y p27) el ciclo celular, con incremento de la expresión de ciclina D1 y p21, a diferencia de los carcinomas de células renales no asociados a translocación (9, 10).

El presente estudio analiza la expresión por inmunohistoquímica de TFE3 y MiTF en ocho casos de angiomiolipoma renal y su relación con la expresión de proteínas que activan y suprimen el ciclo celular.

## **OBJETIVO GENERAL**

Analizar la expresión inmunohistoquímica del factor de transcripción E3 (TFE3) y MiTF en angiomiolipomas renales y su relación con moléculas del ciclo celular.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Cuantificar la expresión inmunohistoquímica mediante la escala de Allred del TFE3 y MiTF en angiomiolipomas renales.
- Definir la expresión inmunohistoquímica de las moléculas que regulan el ciclo celular (ciclina D1, p21, p16, p27, p57 y p53) en angiomiolipomas renales.
- Clasificar a los angiomiolipomas renales de acuerdo a la expresión inmunohistoquímica del factor de transcripción E3 (TFE3) y definir características clínicas y anatomopatológicas propias.

## MATERIAL Y METODOS

Es un estudio retrospectivo, descriptivo y analítico de ocho casos de angiomiolipomas renales obtenidos del archivo del Departamento de Patología Quirúrgica y Molecular del Centro Médico ABC durante el periodo de enero del 2001 a marzo del 2013.

De cada caso se obtuvieron las características macroscópicas de los informes de patología, además de las laminillas y bloques de parafina. Se realizó la revisión histológica, se clasificaron de acuerdo al tipo celular predominante (clásico, predominantemente con tejido adiposo, predominantemente muscular, atípico y epitelioides (ver Figura #1)) y se seleccionó un bloque de parafina con zonas representativas del tumor para estudios de inmunohistoquímica mediante el método estándar de avidina-biotina-peroxidasa. Los anticuerpos utilizados con sus respectivas clonas se resumen en la tabla #1.

Tanto el TFE3, el MiTF y las proteínas del ciclo celular fueron considerados positivos cuando mostraron inmunomarcación nuclear; las células que presentaron marcación citoplasmática fueron consideradas negativas; de igual manera se analizó el tejido no neoplásico adyacente que no tuviera marcación cruzada.

La cuantificación del TFE-3, MiTF y de las proteínas del ciclo celular se realizó mediante la escala de Allred a 10x (7, 11), que analiza tanto la intensidad (escala de 0 a 3, donde: 0= negativo, 1= débil, 2= moderada y 3= intensa) como el porcentaje de positividad (escala de 0-5, donde 0= negativo, 1= <1/100 células, 2= de 1/100 a 1/10 células, 3= de 1/10 a 1/3 células, 4= de 1/3 a 2/3 células y 5= >2/3 células). Ambos parámetros se suman y los casos con un resultado igual o menor de 3 se consideraron negativos (7, 11). La cuantificación del Ki67 se realizó por porcentaje.

Con los resultados obtenidos se dividieron los casos en dos grupos: angiomiolipomas TFE3 positivos y angiomiolipomas TFE3 negativos, y se analizó la edad de presentación, las características morfológicas, la expresión del MiTF y de las proteínas del ciclo celular.

## RESULTADOS

Del periodo comprendido entre enero del 2001 a marzo del 2013 se encontraron un total de 8 casos de angiomiolipoma renal. La edad promedio de presentación fue de 66.12 años (30 a 87 años), siete de ellos (87.5%) afectaron a mujeres y un caso afectó a un hombre. El lado de afección en seis casos fue derecho (75%) y en dos casos (25%) afectaron el riñón izquierdo. Ninguno se asoció clínicamente a esclerosis tuberosa (Ver tabla #2). Todos los casos tuvieron coexpresión de marcadores de diferenciación melanocítica (HMB-45) y muscular (actina antimúsculo liso) (Ver Figura #2).

De acuerdo a la escala de Allred el TFE3 fue positivo en el 50% de los casos (cuatro casos) con una media de 4.75. Dos casos tuvieron una suma de 4, uno de 5 y uno de 6. Además otros dos casos mostraron positividad baja en menos del 10% de las células neoplásicas y dos casos no mostraron positividad en ninguna de las células (Tabla #3 y Figura #3).

En el grupo de tumores TFE3 positivos, tres afectaron a mujeres y un caso afectó a un hombre, la edad media de presentación fue de 59.75 años (30-83 años), tres casos afectaron al riñón derecho y uno al izquierdo, el tamaño varió de 1.1 cm. a 8 cm. con un caso multicéntrico. Histológicamente correspondieron a dos angiomiolipomas clásicos y dos con predominio de músculo liso. Por inmunohistoquímica tres casos fueron positivos al MiTF con una intensidad del 70% al 90% (Ver Figura #4).

En cuanto a la expresión de las proteínas del ciclo celular en el grupo de angiomiolipomas TFE3 positivos, todos (100%) fueron positivos a la ciclina D1 (Ver Figura #5), con porcentaje de positividad entre el 15% al 60%. El p21 fue positivo en tres casos (75%) con una intensidad entre el 20% al 40% (Ver Figura 6). La p53 y p16 fueron negativas. Un caso fue positivo al p27 con un porcentaje del 20%, un caso positivo al p57 con un porcentaje del 20% y el Ki67 fue positivo entre el 1% al 3%.

En el grupo de angiomiolipomas TFE3 negativos todos afectaron a mujeres, la edad media de presentación fue de 72.5 años (41-87 años), tres tumores afectaron al riñón derecho y uno al izquierdo y el tamaño osciló entre 4 cm. a 9 cm. Histológicamente dos fueron angiomiolipomas clásicos, uno con predominio de músculo liso y uno con predominio de tejido adiposo. Por inmunohistoquímica el MiTF fue positivo en dos casos con un porcentaje del 15% al 25% (Ver Figura #4).

En cuanto a la expresión de las proteínas del ciclo celular en el grupo de tumores TFE3 negativos, dos casos fueron positivos a la ciclina D1 (50%) con un porcentaje de positividad entre el 15% al 20% (Ver Figura #5). El p21 fue positivo en dos casos (50%) con un porcentaje del 30% al 50% (Ver Figura #6). La p53 fue positiva en dos casos (50%) con un porcentaje del 30% al 50%. El resto de las proteínas (p27, p16 y p57) fueron negativas. El Ki67 fue positivo en el 1%.

## DISCUSION

Los angiomiolipomas son tumores mesenquimatosos benignos que forman parte de la familia de los PEComas (neoplasias de células epitelioides perivasculares), representan el 1% de los tumores renales, son más comunes en mujeres (relación 4:1), la edad de presentación varía si está asociado o no a esclerosis tuberosa; en los casos no asociados a esclerosis tuberosa se presenta entre los 45 a 55 años y en los casos asociados a esclerosis tuberosa se presenta entre los 25 y 35 años y han sido descritos en el 60% a 80% de pacientes con esta enfermedad, principalmente cuando son multicéntricos (1, 3).

Estas neoplasias afectan principalmente el riñón, macroscópicamente se presentan como tumores no encapsulados, de bordes empujantes, cuya apariencia depende del predominio de sus componentes y en ocasiones pueden mostrar hemorragia extensa. Histológicamente son trifásicos, con vasos sanguíneos irregulares de paredes engrosadas, tejido adiposo maduro y células de músculo liso. Algunos tienen atipia citológica, células multinucleadas, actividad mitótica o necrosis focal y se denominan angiomiolipomas atípicos y otros casos muestran morfología exclusivamente epitelioides que pueden ser confundidos con carcinoma renal (angiomiolipoma epitelioides) (3).

Se ha descrito localización extrarrenal, siendo consideradas como una manifestación de multicentricidad, y hay pocos casos informados con transformación maligna (1).

Por inmunohistoquímica expresan marcadores de diferenciación muscular (actina antimúsculo liso, calponina) y de diferenciación melanocítica (HMB-45, tirosinasa, Melan-A, MiTF). También se ha descrito positividad ocasional al CD68, a receptores hormonales (estrógenos y progesterona), a la proteína S-100 y desmina, sin embargo los marcadores epiteliales son negativos (1, 2, 5).

Además hay otros marcadores estudiados en estas neoplasias que están relacionados con la diferenciación melanocítica, uno de estos es el TFE3 (factor de transcripción E3), que forma parte de la familia del factor de transcripción asociado a microftalmia, que incluye al MiTF, TFEB y TFEC.

La molécula del TFE3 está compuesta por una estructura básica de doble hélice con actividad de cierre de zinc, con dos cadenas alfa unidas por una tercera cadena. Las cadenas alfa tienen la característica de unirse por dimerización al ADN, formando homodímeros o heterodímeros, que de acuerdo a un estímulo no conocido hasta el momento induce proliferación celular o diferenciación celular, esta última descrita principalmente en la melanogénesis (7).

Este factor de transcripción es codificado en el cromosoma Xp11.2 y de manera normal no es detectado en los tejidos por inmunohistoquímica. Secundario a translocación, el TFE3 forma parte de genes de fusión que sintetizan proteínas quiméricas que conservan la porción C-terminal de esta molécula que de manera anormal está elevada en el tejido neoplásico. De esta manera, se creó un anticuerpo que reconoce la porción C-terminal del TFE3 y cuya sobreexpresión se asocia a translocación de dicho factor de transcripción (8, 12).

La translocación del TFE3 ha sido descrita principalmente en dos neoplasias, en el sarcoma alveolar de partes blandas y en el carcinoma de células renales asociados a translocación. Debido a que estas neoplasias tienen una alteración en una de las moléculas de la familia de los factores de transcripción asociados a microoftalmia,

algunos autores proponen englobarlos dentro del grupo de "tumores asociados a la familia del factor de transcripción de microoftalmia" (13).

Dickson y col estudiaron la expresión de TFE3 en los "tumores asociados a la familia del factor de transcripción de microoftalmia", donde incluyeron 22 casos de angiomiolipomas renales y demostraron que el 81.8% de estos tumores fueron positivos (7). Francis y Nonaka estudiaron 20 casos de angiomiolipoma renal y demostraron una positividad difusa con el TFE3 en el 100% de los casos (13). Argani y col estudiaron la expresión por inmunohistoquímica del TFE3 tanto de manera manual y automatizada, además de estudios por FISH y RT-PCR en PEComas, donde incluyeron 13 angiomiolipomas renales y demostraron que ninguno presentó translocación del gen TFE3 y solo un caso tuvo positividad 2+ por inmunohistoquímica. Sin embargo detectaron que un pequeño grupo de PEComas (colon, útero, glúteos, pierna) que tuvieron translocación de este gen, lo que apoya la inclusión de un subgrupo de PEComas en las neoplásicas que tienen fusión de TFE3 (8).

Debido a la positividad del TFE3 en estas neoplasias, algunos autores propusieron que todos los PEComas forman parte de los "tumores asociados a la familia del factor de transcripción asociado a microoftalmia", sin embargo otros estudios señalan que no todos los PEComas tienen alteración en esta familia de factores de transcripción y que si existe un subgrupo con alteración del TFE3 que tiene características morfológicas e inmunohistoquímicas distintas a los PEComas sin translocación. En el presente estudio solo la mitad de los casos mostró positividad al TFE3.

Se ha descrito que los angiomiolipomas positivos al TFE3 se presentan a menor edad en relación a los angiomiolipomas convencionales, no se asocian a esclerosis tuberosa, tienen predominantemente patrón alveolar, con citología epitelioides, baja inmunexpresión de marcadores musculares y positividad intensa por inmunohistoquímica al TFE3 (6, 8).

Con los resultados descritos por otros autores, además de los presentados en este trabajo, se puede sugerir que no todos los PEComas y/o angiomiolipomas tienen alteración del TFE3, por lo que no todos deberían ser englobados dentro de los "tumores asociados a la familia del factor de transcripción de microoftalmia".

En ocasiones puede detectarse positividad por inmunohistoquímica al TFE3 sin que exista translocación propiamente dicha, una teoría que explicaría esta inmunorreacción es que la expresión del TFE3 sería la manifestación de diferenciación melanocítica del tumor y/o que los niveles basales se encuentren elevados, sin necesidad de que presenten translocación Xp11.2 (7).

En el presente estudio se agruparon los angiomiolipomas de acuerdo a la positividad al TFE3 por inmunohistoquímica. Los casos positivos tuvieron una edad media de presentación menor en relación a los casos negativos (59.75 años vs 72.5 años), lo que concuerda con los estudios previos realizados por Argani (6, 8). Histológicamente no se encontró diferencia en el patrón de crecimiento, ni predominio de patrón alveolar ni células epitelioides. La intensidad y porcentaje de células positivas por inmunohistoquímica al HMB-45 y a la actina antimúsculo liso fue similar en ambos grupos, con predominio de la positividad para actina antimúsculo liso que para el HMB-45.

El MiTF fue positivo en cinco casos de angiomiolipoma (62.5%), tres de ellos positivos al TFE3 y dos negativos. En los casos positivos al TFE3 tanto la intensidad como el número de células positivas fue mayor (70% a 90%) y en el grupo negativo a

TFE3 tuvieron menor intensidad y menor porcentaje de células positivas (15% a 25%), esto puede estar asociado a que ambos factores de transcripción están relacionados con la diferenciación melanocítica.

Se ha propuesto que el MiTF regula la proliferación celular controlando las ciclinas dependientes de cinasas (CDK) y la expresión de los inhibidores de CDK (14). Sturb y col demostraron que el MiTF también regula la expresión de CDKN1B (p27) (14). Otra función del MiTF es promover la proliferación por medio de la activación de genes encargados de replicación y reparación del ADN, reprime los genes que promueven la motilidad y la invasión. Las células que expresan bajos niveles de MiTF reducen la proliferación, replicación y mitosis; también se ve afectada la estabilidad genómica, favoreciendo la transición a un estado más agresivo e invasor (15).

Barroca y Muller-Hocker estudiaron la expresión de moléculas del ciclo celular en uno de los tumores asociados a la familia de factores de microoftalmia que es el carcinoma de células renales asociados a translocación Xp11.2. Muller-Hocker demostró en un caso que había sobreexpresión de ciclina D1 y ciclina D3 con acumulación de p21 y pérdida de p27 (9). Barroca de igual manera demostró un resultado similar, con positividad para p21, ciclina D1 y ciclina D3 en un caso de carcinoma de células renales asociado a translocación (10).

Es bien conocido que el ciclo celular está controlado por puntos de restricción que se encargan de la regulación de la integridad del ADN antes y después de la replicación para a su vez controlar si la célula debe o no entrar a mitosis. Estos puntos de restricción se encuentran formados por el complejo de ciclinas (D, A, E, B) y cinasas dependientes de ciclinas (CDK4, CDK2, y CDK1). Los puntos de restricción se encuentran regulados por los inhibidores de la familia Cip/Kip (p21, p27 y p57) y INK4/ARF (p16INK4A y p14ARF) (Ver Figura #7). En los casos estudiados todos los angiomiolipomas positivos al TFE3 tuvieron marcación con la ciclina D1 y tres de cuatro casos fueron positivos al p21, esto a diferencia de los casos TFE3 negativos, donde la mitad expresó ciclina D1 y p21. Este último grupo presentó positividad al p53 en la mitad de los casos. Ninguno de los angiomiolipomas tuvo inmunomarcación para p16.

Los tres mecanismos propuestos para el incremento de la ciclina D1 son: 1) deficiente degradación citoplasmática de las ubiquitinas, 2) alteración en las moléculas inhibitoras del ciclo celular y 3) alteración en los genes de factores de transcripción y de síntesis de las ciclinas (16).

Cuando no existe daño celular, el p53 se encuentra en concentraciones bajas. Cuando hay daño en el ADN, se incrementa la síntesis de p53 que estimula la transcripción génica. Uno de estos genes es el que codifica la proteína p21, que se une a las ciclinas A/ CDK2 y Ciclina E/ CDK2 las inhibe y bloquea la entrada a la fase S.

La expresión inmunohistoquímica del p21 en nuestros casos, se puede deber a la sobreexpresión del p53 no mutado siendo un defecto de la funcionalidad del mismo, como en el caso que presentan Muller- Hocker y col (9). Sin embargo en los casos positivos al TFE3 no se detectó marcación para p53. Se ha postulado que el incremento en la expresión del p21 puede ser independiente del p53, donde la ciclina D1 induce activación transcripcional del p21 y esta no tiene una función adecuada, sin

embargo el rol de ambas moléculas en las neoplasias con alteración del TFE3 no está del todo claro y mucho menos en tumores benignos como el angiomiolipoma (9).

## **CONCLUSIONES**

Por tanto, con los estudios previos realizados y con los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede señalar que no todos los angiomiolipomas expresan TFE3 y que su detección, en ausencia de translocación, puede representar diferenciación melanocítica de los tumores; por lo que no es posible englobar a todos los angiomiolipomas dentro de los “tumores asociados a la familia del factor de microoftalmia”. El grupo de angiomiolipomas TFE3 positivo se presentó a menor edad, sin tener diferencia significativa en cuanto al sexo, tamaño ni localización.

Los angiomiolipomas TFE3 positivos tuvieron mayor expresión de ciclina D1 y p21 en comparación al grupo negativo, hecho que puede apoyar la presencia de dos grupos distintos desde el punto de vista biológico de angiomiolipomas. El significado y valor clínico de los resultados previos y de nuestros resultados no está del todo claro, por lo que deberá ser analizado en un número mayor de casos para poder obtener conclusiones contundentes.

## REFERENCIAS

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. Armah H., Parwani A. Perivascular Epithelioid Cell Tumor Arch Pathol Lab Med. 2009;133:648–654
3. Folpe AL, Kwiatkowski DJ. Perivascular epithelioid cell neoplasms: pathology and pathogenesis. Hum Pathol 2010; 41: 1-15.
4. Hornick JL, Fletcher CD. PEComa: what do we know so far?. Histopathology 2006; 48: 75-82.
5. Martignoni G, Pea M, Reghellin D, Zamboni G, Bonetti F. PEComas: the past, the present and the future. Virchow Arch 2008; 452: 119-132.
6. Malinowska I, Kwiatkowski DJ, Weiss S, Martignoni G, Netto G, Argani P. Perivascular epithelioid cell tumors (PEComas) harboring TFE3 gene rearrangements lack the TSC2 alterations characteristics of conventional PEComas: further evidence for a biological distinction. Am J Surg Pathol 2012; 36: 783-784.
7. Dickson BC, Brooks JS, Pasha TL, Zhang PJ. TFE3 expression in tumors of the microphthalmia-associated transcription factor (MiTF) family. Int J Surg Pathol 2011; 19: 26-30.
8. Argani P, Aulmann S, Illei P, et al A distinctive subset of PEComas harbors TFE3 gene fusions. Am J Surg Pathol 2010;34:1395–1406.
9. Muller-Hocker J, Babaryka G, Schmid I, Jung A. Overexpression of cyclin D1, D3 and p21 in an infantile renal cell carcinoma with Xp11.2 TFE3-gene fusion. Pathol Res Pract 2008; 204: 589-597.
10. Barroca H, Castedo S, Vieira J, Teixeira M, Muller-Hocker J. Altered expression of key cell cycle regulators in renal cell carcinoma associated with Xp11.2 translocation. Pathol Res Pract 2009; 205: 466-472.
11. Harvey JM, Clark GM, Osborne CK, Allred DC. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. J Clin Oncol 1999; 17: 1474-1481.
12. Argani P, Lal P, Hutchinson B, Lui MY, Reuter VE, Ladanyi M. Aberrant nuclear immunoreactivity for TFE3 in neoplasms with TFE3 gene fusions. Am J Surg Pathol 2003; 27: 750-761.
13. Francis F, Nonaka D. A study of MiTF/TFE transcription factors and melanocytic differentiation markers in angimyolipoma. Mod Pathol 2009; 22: 13A-4A.

14. Strub T, Giuliano S, Ye T, et al. Essential role of microphthalmia transcription factor for DNA replication, mitosis and genomic stability in melanoma. *Oncogene* 2011; 30: 2319-2332.
15. Verastegui C., Bertolotto C., Bille K., Abbe P, Ortonne JP, Ballotti R. TFE3, a transcription factor homologous to microphthalmia, is a potential transcriptional activator of tyrosinase and TyrpI Genes. *Mol Endocrinol* 2000; 14: 449–456.
16. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Biología molecular de la célula*. 4ta edición, Garland science, 2002, New York – Estados Unidos de Norte América.

## ANEXOS

### Tablas:

**Tabla #1 Anticuerpos utilizados en angiomiolipomas renales.**

ANTICUERPO	CASA COMERCIAL	CLONA	RECUPERADOR	DILUCIÓN
Actina anti músculo liso	Dako	Mouse Monoclonal HHF35	Target Retrieval solución PH bajo	1:300
HMB45	Dako	Mouse Monoclonal HMB45	Target Retrieval solución PH bajo	1:40
TFE3	Cell Marque	Rabbit monoclonal MRQ-37	Target Retrieval solución PH bajo	1:80
MitF	Bio SB	Mouse monoclonal C5	Target Retrieval solución PH bajo	1:250
Ciclina D1	Bio SB	RBT-14	Target Retrieval solución PH bajo	1:300
p21	DAKO	SX118	Target Retrieval solución PH bajo	1:20
p16	DAKO	E6H4	Target Retrieval solución PH bajo	1:25
p27	BIOGENEX	SX53G8	Target Retrieval solución PH bajo	1:20
p53	Santa Cruz	D07	Target Retrieval solución PH bajo	1:200
p57	Bio SB	Kp10	Target Retrieval solución PH bajo	1:1500
Ki67	Cell Marque	K-3	Target Retrieval solución PH bajo	1:25

**Tabla #2. Características clínicas y patológicas de angiomiolipomas renales.**

Número	Sexo	Edad	Lado afectado	Tamaño del tumor (cm.)	Tipo celular predominante
1	F	85	Derecho	4.5	Clásico
2	F	87	Izquierdo (capsuloma)	4	Predominio músculo liso
3	F	41	Derecho	6	Predominio tejido adiposo
4	F	47	Derecho	8	Clásico con necrosis focal
5	F	77	Derecho	9	Clásico
6	F	83	Derecho	2.1	Predominio músculo liso
7	M	30	Derecho	1.2	Predominio músculo liso
8	F	79	Izquierdo (múltiple)	1.1 y 2.4	Clásico

**Tabla #3. Expresión inmunohistoquímica de TFE3 y MiTF en angiomiolipomas renales de acuerdo a la escala de Allred.**

Número de caso	TFE3			MiTF		
	Intensidad	Porcentaje	Allred	Intensidad	Porcentaje	Allred
1	0	0	0	1	10%	3
2	0	0	0	0	0	0
3	2	5%	2	1	25%	4
4	1	15%	4	1	5%	3
5	1	10%	3	2	15%	4
6	1	15%	4	3	90%	8
7	1	40%	5	3	70%	8
8	2	60%	6	3	80%	8

**Figuras:**

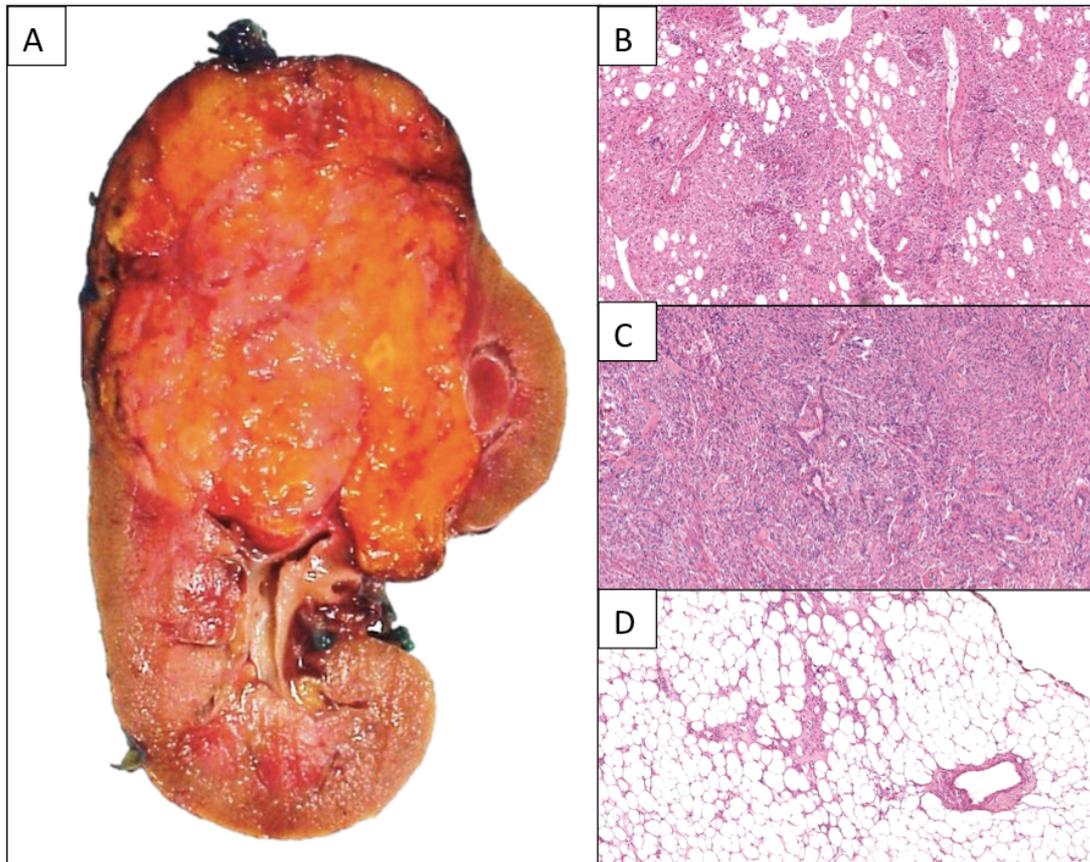


Figura #1. A. Caso 4. Producto de nefrectomía derecha que muestra un tumor en el polo superior de 7 x 5 x 5 cm., de bordes empujantes, heterogéneo, con áreas de aspecto adiposo entremezcladas con áreas blanco grisáceas. Subtipos histológicos de angiomiolipoma: tipo clásico (B, 100x, H y E), con predominio de músculo liso (C, 100x, H y E) y con predominio de adipocitos (D, 100x, H y E).

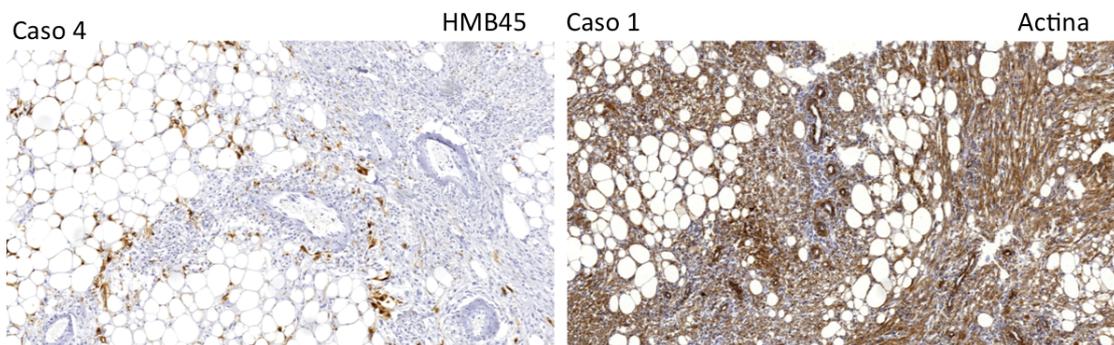


Figura #2. Todas las neoplasias mostraron inmunomarcación citoplasmática con HMB-45 y actina antimúsculo liso (Caso 4, HMB-45, 100x; Caso 1, actina antimúsculo liso, 100x).

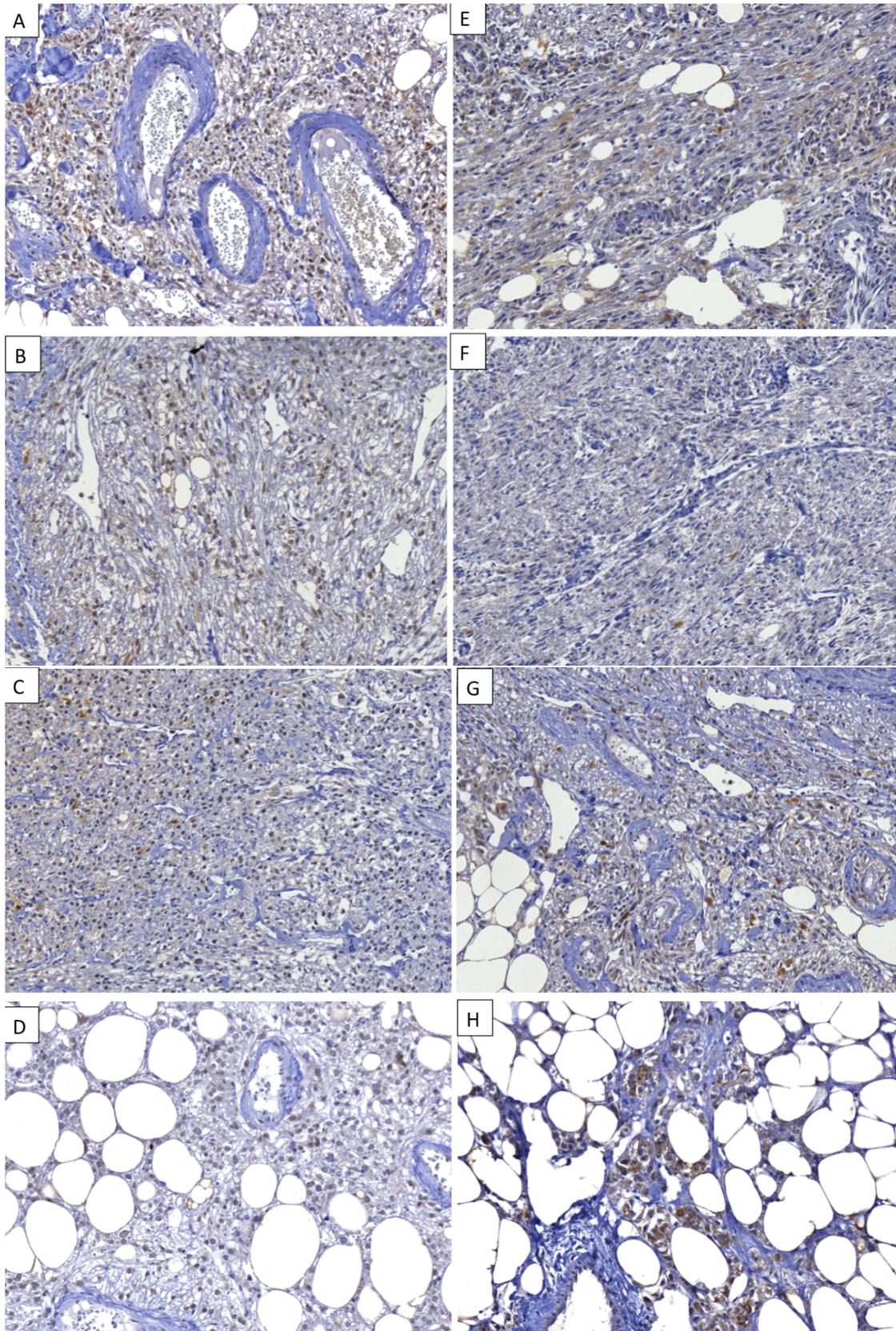


Figura #3. Expresión inmunohistoquímica de TFE3 en angiomiolipomas renales. A-D. Angiomiolipomas positivos al TFE3 con escala de Allred que va de 4 a 6 (200x). E-H. Angiomiolipomas negativos al TFE3 con escala de Allred de 0 a 3 (200 x).

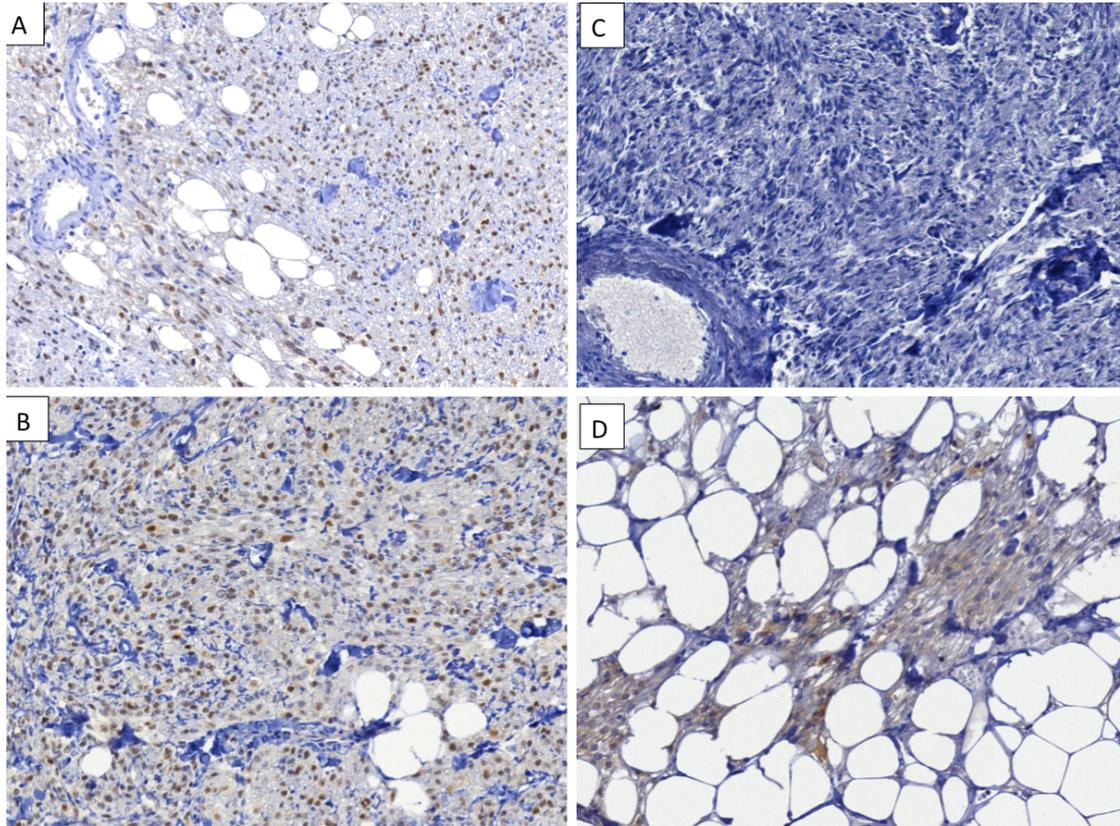


Figura #4. Expresión inmunohistoquímica de MiTF en angiomiolipomas renales. A-B. Angiomiolipomas TFE3 positivos que coexpresan MiTF con escala de Allred de 8 (200x). C. Angiomiolipoma negativo a TFE3 y MiTF (Caso 4 y caso 7, 200x). D. Angiomiolipoma negativo a TFE3 y positivo débil y focal a MiTF (Caso 2 y caso 3, 200x).

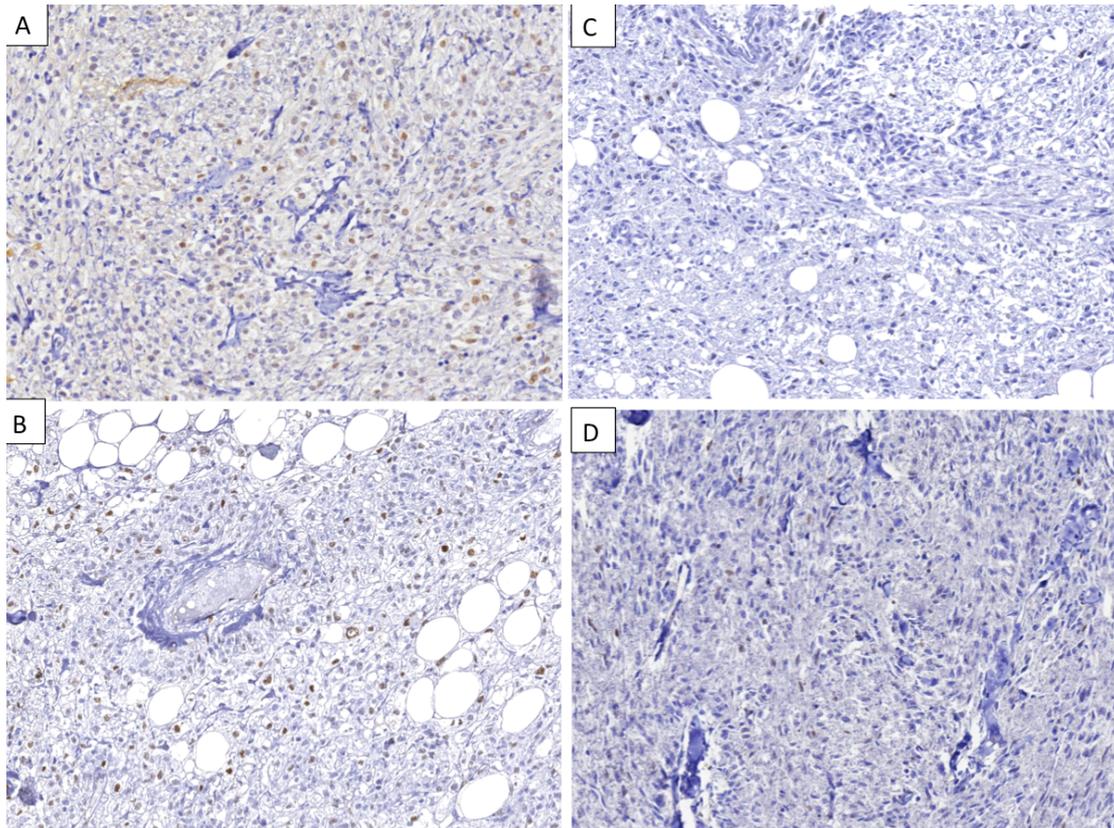


Figura #5. Expresión inmunohistoquímica de ciclina D1 en angiomiolipomas renales. A-B. Angiomiolipomas TFE3 positivos con inmunomarcación con ciclina D1 (Caso 7 y caso 4, 200x). Angiomiolipomas negativos para TFE3 y ciclina D1 (Caso 1 y caso 2, 200x).

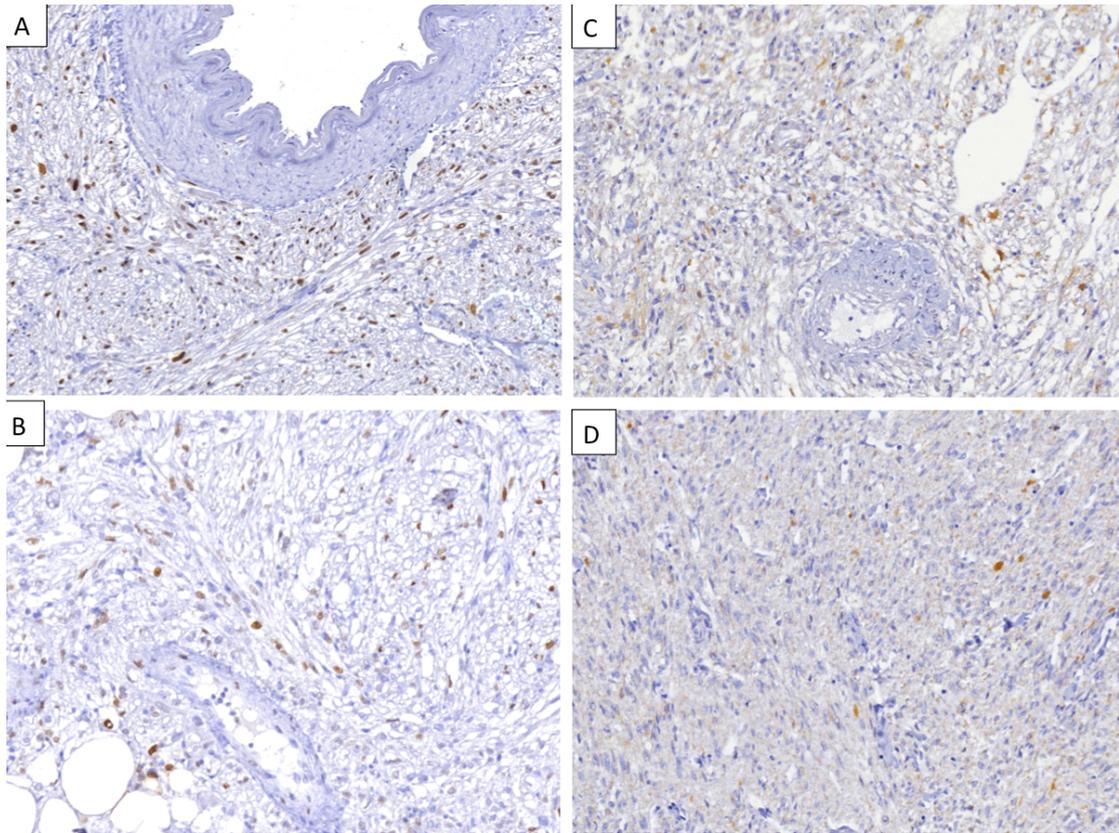


Figura #6. Expresión inmunohistoquímica de p21 en angiomiolipomas renales. A-B. Angiomiolipomas TFE3 positivos con inmunomarcación con p21 (Caso 6 y caso 8, 200x). C-D. Angiomiolipomas negativos a TFE3 y p21 (Caso 1 y caso 2, 200x).

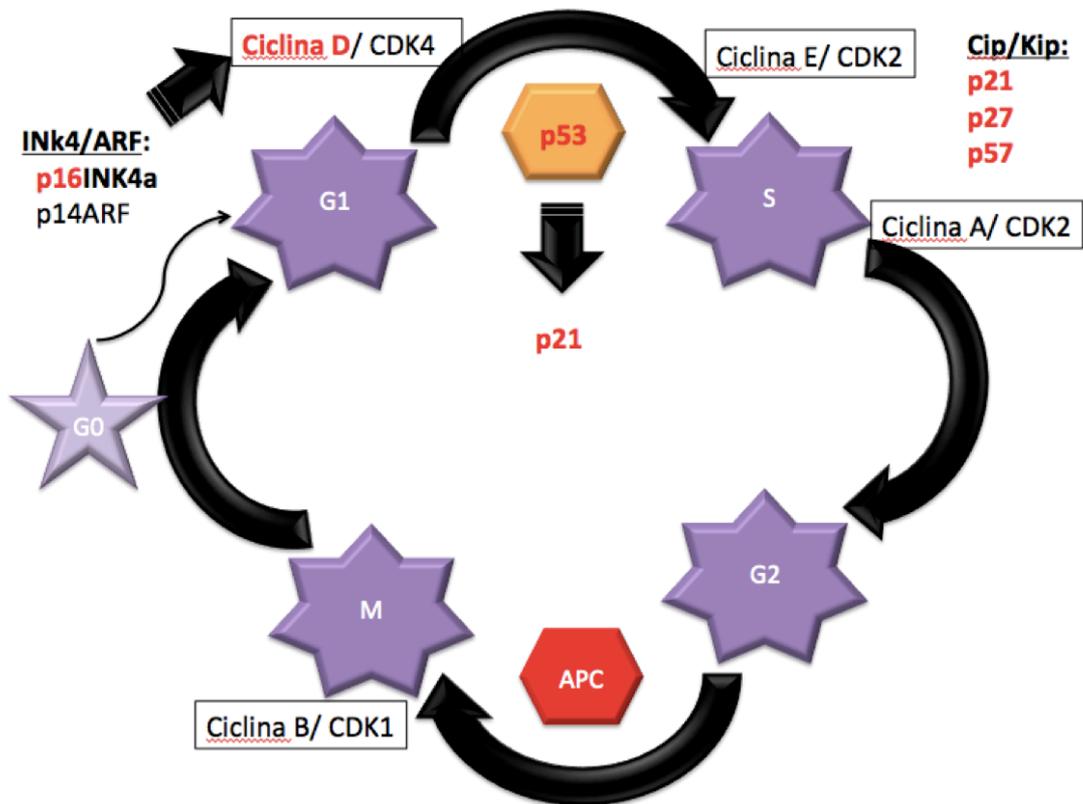


Figura #7. El ciclo celular está controlado por puntos de restricción que se encargan de la regulación de la integridad del ADN antes y después de la replicación para controlar si la célula debe o no entrar a mitosis. Estos puntos de restricción se encuentran formados por el complejo de ciclinas (D, A, E, B) y cinasas dependientes de ciclinas (CDK4, CDK2, y CDK1). Los puntos de restricción se encuentran regulados por los inhibidores de la familia Cip/Kip (p21, p27 y p57) y INK4/ARF (p16INK4A y p14ARF). En los casos estudiados todos los angiomiolipomas positivos al TFE3 tuvieron marcación con la ciclina D1. La ciclina D1 induce la activación transcripcional del p21, el rol de ambas moléculas en las neoplasias con alteración del TFE3 no está del todo claro y mucho menos en tumores benignos como en angiomiolipoma.