

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

11262
27

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
FACULTAD DE MEDICINA

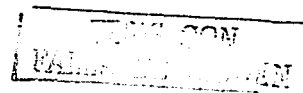
**EXPRESIÓN DE LAS VARIANTES 5, 3 Y 6 DE CD44 COMO FACTOR PREDICTOR EN LOS
CARCINOMAS DE CELULAS TRANSICIONALES DE VEJIGA***

TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE
MAESTRA EN CIENCIAS MEDICAS
P R E S E N T A :
DRA. ALEJANDRA MANTILLA MORALES

ASESOR:
DRA. DULCE MA. HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

MEXICO, D.F.

SEPTIEMBRE 2003





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.

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**

*El título de la tesis que corresponde al trabajo realizado es:

EXPRESIÓN DE LAS VARIANTES 3, 6 Y 9 DE CD44 EN LOS CARCINOMAS DE CELULAS TRANSICIONALES DE VEJIGA Y SU ASOCIACIÓN CON INVASIÓN A LA MUSCULAR PROPIA.



DRA. DULCE MA. HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ
TUTORA DE TESIS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DEDICATORIA

A mis padres
Que siempre están cerca brindándonos
apoyo, han logrado que nuestros
proyectos sean una realidad. Nuestros
éxitos son sus éxitos, gracias.

A mi esposo
Gracias por esperar y por acompañarme
en esta etapa. Avancemos juntos el
resto del camino para que nuestros
esfuerzos se cristalicen en un logro
común, nuestra felicidad.

A mi hijo
Quién en su inocencia y espontaneidad me
ha enseñado que la vida tiene muchas
facetas, cada una con hermosas maravillas
que me permiten sentir la dicha de
asombrarme cada día.

AGRADECIMIENTOS

A todos aquellos que al brindarme su ayuda, consejo y apoyo participaron en la realización de este trabajo. Gracias:

Dra. Dulce Ma. Hernández, Dr. Mauricio Salcedo, Dr. Héctor Santiago Payán, Dra. Isabel Alvarado, Teresa Apresa, Juan Díaz, Sr. Felipe García, Alfredo Hidalgo, Patricia Piña, Dra. Ma. Elena Rojas, Dr. Jorge Fernández Díez, personal de archivo clínico del Hospital de Oncología CMN SXXI.

A mis maestros
Que modificaron mi manera de ver la medicina y la vida.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

INDICE

Resumen	5
Antecedentes	
Generalidades del carcinoma de células transicionales de vejiga	6
Familia de proteínas de CD44	12
Justificación	20
Planteamiento del problema	21
Hipótesis	22
Objetivos	23
Material y métodos	
Población de estudio	24
Variables	26
Desarrollo general del estudio	31
Resultados	34
Discusión	38
Conclusión	43
Bibliografía	44
Tablas de resultados	49
Figuras	61
Anexo	66

RESUMEN

El carcinoma de células transicionales de vejiga ocupa el octavo lugar en frecuencia entre las neoplasias malignas en México. Entre el 70-80% son lesiones papilares confinadas a la mucosa o a la lámina propia, y el resto infiltran la muscular propia. El análisis de la relación entre componentes moleculares de las células neoplásicas y la invasión al estroma en los carcinomas de urotelio, ayudaría a identificar algunos elementos que determinan el comportamiento biológico de estos tumores.

El CD44 es una molécula de adhesión que participa en procesos de reconocimiento celular, interacción de células con matriz extracelular y motilidad de las células. Se ha documentado que algunas de sus isoformas que presentan regiones variantes participan en la progresión tumoral y en el proceso de metástasis en carcinoma de colon, de estómago y de mama. El objetivo de este trabajo fue determinar la asociación entre la expresión de las variantes 3, 6 y 9 de CD44 con la invasión del carcinoma de células transicionales a la muscular propia.

Se realizó un estudio transversal analítico para evaluar esta asociación. Se analizaron 152 neoplasias, 54 con invasión a la muscular propia y 98 sin invasión; se evaluaron características histopatológicas como grado histológico, patrón de crecimiento, invasión vascular, invasión neural y la asociación con displasia o carcinoma in situ. Se evaluó la expresión por inmunohistoquímica de las variantes 3, 5 y 9 de CD44 y p53.

En el análisis multivariado grado histológico alto, patrón de crecimiento infiltrante y expresión de la variante 9 de CD44 en menos del 50% de las células neoplásicas fueron los factores que se asociaron con invasión a la muscular propia.

Entre los carcinomas superficiales Ta-T1, hubo menor expresión de la variante 6 de CD44 en los carcinomas que invadían la lámina propia.

La disminución en la expresión de las variantes 6 y 9 de CD44 en los carcinomas de células transicionales de vejiga podría ser una característica que ayude a apoyar el diagnóstico de invasión a la lámina propia y a la muscular propia respectivamente.

ANTECEDENTES

Generalidades de carcinoma de células transicionales de vejiga

Se estima que en el año 2000 se presentaron a nivel mundial 335 800 nuevos casos de cáncer de vejiga, ocupando el octavo lugar como causa de casos nuevos de neoplasias malignas.¹ En México ocupó el octavo lugar en frecuencia en el periodo de 1987 a 1997 lo que correspondió al 2.4% de los tumores malignos registrados.² El carcinoma urotelial es el subtipo histológico más frecuente de cáncer de vejiga, representando el 90% de estas neoplasias.

La mayoría de los carcinomas de vejiga se presentan en pacientes mayores de 65 años con predominio en el sexo masculino. El cuadro clínico inicia básicamente con hematuria, la cual está presente en el 90% de los pacientes. Síntomas irritativos que incluyen urgencia urinaria y disuria se pueden observar hasta en el 20% de los casos, y con menor frecuencia se presenta dolor abdominal como resultado de la obstrucción en el uretero, edema de miembros inferiores secundario a obstrucción linfática o síntomas relacionados con tumor pélvico.³

Una característica determinante para el pronóstico y el tratamiento es el grado de invasión a la pared vesical. La estadificación de acuerdo al *American Joint Committee for Cancer y TNM Committee of the International Union Against Cancer*, es ampliamente aceptada y toma en cuenta la profundidad de invasión y extensión de la neoplasia, las metástasis a ganglios linfáticos y las metástasis a distancia.^{4,5} (Anexo 1)

El primer sistema para gradificar el carcinoma de urotelio fue propuesto por Broder en la clínica Mayo en 1922, y se basaba en el porcentaje de células neoplásicas que eran diferenciadas. Desde entonces han surgido varios sistemas de gradificación. Los tres grados propuestos por Mostofi y adoptados por la Organización Mundial de la Salud están basados en la anaplasia de las células

tumorales, determinado por aumento de celularidad, irregularidad nuclear, pérdida de la polaridad nuclear, ausencia de diferenciación, pleomorfismo, irregularidad en el tamaño de las células, presencia de células gigantes y figuras de mitosis. En el grado 1 las células muestran ligero agrandamiento nuclear, mantienen la arquitectura normal, no tienen mitosis o son muy escasas. En el carcinoma grado 2, hay mayor grado de pleomorfismo nuclear, con cromatina grumosa y pérdida de la arquitectura normal, las mitosis siguen siendo infrecuentes. En el carcinoma grado 3 hay atipia nuclear acentuada, pérdida de la arquitectura y de la capacidad de cohesión de las células, las mitosis son frecuentes.⁶

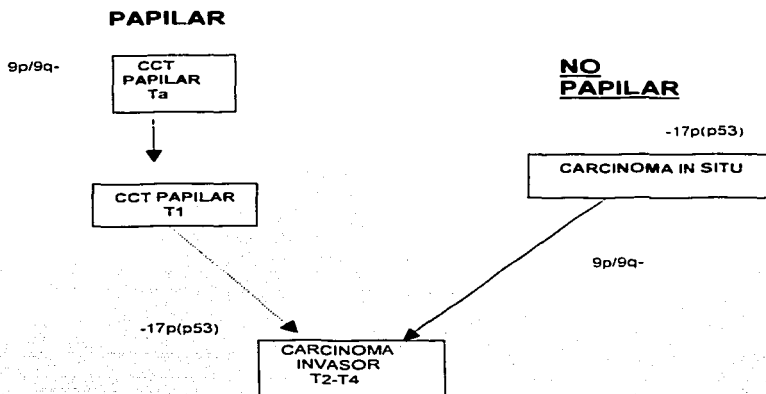
El carcinoma de células transicionales (CCT) o carcinoma urotelial comprende un gran espectro de tumores con comportamientos clínicos y biológicos diversos.⁷ Se caracteriza por ser una enfermedad neoplásica heterogénea que puede desarrollar múltiples tumores en el tiempo y en diferentes sitios revestidos por urotelio. Se ha establecido que el CCT de vejiga se desarrolla de dos vías distintas pero que en ocasiones se relacionan. Spruck identificó dos probables vías moleculares en el desarrollo del carcinoma urotelial de vejiga, y sugiere que el tiempo y el orden de las alteraciones podrían determinar el fenotipo y el potencial de progresión de los tumores.⁷ La inactivación de p53 a través de mutaciones parece presentarse en etapas tempranas del carcinoma in situ (CIS) y la displasia; contrariamente, alteraciones en el cromosoma 9 pueden ser el inicio para el desarrollo de carcinomas papilares no invasores. La progresión a estadios invasores de cualquiera de estas dos lesiones requiere, además de otros cambios, de la adquisición de alteraciones en el cromosoma 9 o del gen p53 respectivamente.⁷ Por su parte Hartmann⁸ observó que la hiperplasia urotelial simple y los CCT de vejiga superficiales tienen casi la misma frecuencia de alteraciones en el cromosoma 9, en contraste, las alteraciones en p53 fueron raras tanto en las hiperplasias como en los carcinomas.

Las observaciones clínicas, junto con los hallazgos de biología molecular apoyan que existen dos vías principales en el desarrollo del CCT de vejiga, una en la

que se presentan lesiones papilares y la segunda de lesiones no papilares que pueden ser precedidas por displasia o CIS (Figura 1).

FIGURA 1

Vías principales en el desarrollo de carcinoma de células transicionales de vejiga



Gran cantidad de alteraciones genéticas se han implicado en el desarrollo y la progresión del CCT de vejiga. Muchas han sido estudiadas en genes supresores como P53 (17p13), RB(13q14), y INK4/ARF, INK4B(9p21) estos últimos codifican a p16 y p15 e inhiben al complejo ciclina-cinasa.⁹

La pérdida de p16, que frecuentemente es acompañada de pérdida de p15, es una de las alteraciones más frecuentes en CCT de vejiga papilares, y se ha visto en muchos CCT de vejiga grado 1 Ta, lo que sugiere que este cambio representa una alteración temprana en la transformación urotelial.¹⁰

Alteraciones en p53 se han identificado en un gran porcentaje de carcinomas que invaden la muscular propia, de forma similar alteraciones en RB son encontradas con mayor frecuencia en tumores de alto grado y estadio.¹¹⁻¹³

En el 70-80% de los CCT de vejiga las lesiones son papilares y están confinadas a la mucosa o a la lámina propia, alrededor del 70% de estos recurren después del tratamiento con resección transuretral, dependiendo del estadio y grado de diferenciación.¹⁴

Los tumores recurrentes pueden progresar a mayor estadio o grado, los porcentajes de progresión varían entre los informes de la literatura (Tabla I), esto se da por las diferentes cohortes de inicio que se estudiaron, así como por los criterios que se tuvieron para determinar progresión.¹⁵⁻¹⁹

Tabla I

AUTOR	TIPO DE TUMOR	PROGRESIÓN EN	
		GRADO	ESTADIO
Prout	TaG1	16%	5%
Leblanc	Ta G1	15%	5%
Henev	Ta-T1 G1-G3		9,6%
Kiemeney	Ta-T1 G1-G3		10%
Kaubisch	T1 G1-G3		27%

Del 20-30% de todos los pacientes con carcinoma de vejiga presentan desde un inicio invasión a la muscular propia. De estos el 50%, cuyo tumor es tratado localmente puede tener recurrencia con enfermedad metastásica en un lapso de 2 años.²⁰

Factores pronósticos

El manejo óptimo del carcinoma de urotelio requiere del conocimiento y la detección de características adquiridos tempranamente en el curso de la enfermedad que puedan predecir la evolución de esta, y así marcar terapias adyuvantes o más agresivas.¹⁶

El grado histológico y el estadio son los factores pronósticos que más se utilizan en la actualidad para determinar las estrategias de tratamiento en CCT. Aunque estas dos variables permiten estratificar de alguna manera el potencial biológico de las neoplasias, desafortunadamente hay un grado significativo de heterogeneidad en el comportamiento de los tumores que impiden predecir con certeza la evolución clínica.¹⁵

Aún así, el grado, estadio y asociación con carcinoma in situ son las características que han mostrado mayor impacto para predecir progresión.^{18,21} Otros factores como multicentricidad, localización, invasión vascular, y tamaño del tumor al realizar análisis multivariados no han demostrado valor pronóstico.¹⁶

Para obtener criterios pronósticos más objetivos se han realizado investigaciones de gran variedad de marcadores moleculares, como la pérdida de genes supresores (por ejemplo P53, RB). Estudios realizados con inmunohistoquímica han demostrado valor pronóstico en la disminución de la expresión del gen de retinoblastoma en tumores de alto grado y estadio.^{11,22}

La sobreexpresión de p53 se ha asociado a mayor estadio y grado, así como a riesgo de progresión.^{12,13,23} Sin embargo Lipponen observó que no tenía valor pronóstico independiente sobre el estadio y el índice mitótico.²⁴

La sobre expresión de oncogenes como CerB2, receptor de factor de crecimiento epidérmico, y alteraciones en proteínas reguladoras del ciclo celular por ejemplo ciclina D1, p21, p27, también han sido estudiados. Algunos han demostrado asociación con progresión de la enfermedad. Sin embargo los resultados no son consistentes.²⁵⁻²⁹

Otro grupo incluye moléculas que participan en la interacción célula-célula y célula-matriz extracelular, y que se modifican en los procesos de invasión al estroma y metástasis. Por ejemplo se ha demostrado una menor expresión de E-caderina en carcinomas de células transicionales de vejiga con invasión a la muscular propia.³⁰

Este grupo de moléculas nos parece de especial interés por su participación en el proceso de invasión al estroma, ya que puede facilitar la migración de la células entre el estroma circundante y las membranas basales vasculares, permitiendo así la entrada a la circulación, avanzando un paso más en el fenómeno de metástasis. Se ha documentado en neoplasias de colon, estómago, páncreas y mama que la molécula de CD44 participa en la progresión tumoral, y la variante 6 se ha encontrado sobre expresada en algunas de estas neoplasias. En carcinoma de urotelio se han observado diferencias en la expresión de esta molécula entre carcinomas superficiales e invasores.

De esta manera se ha buscado obtener una mayor correlación entre las alteraciones moleculares y la invasión al estroma en los carcinomas de urotelio, y el comportamiento biológico de esta neoplasia. Sólo con una estrategia similar podríamos, en teoría, obtener un criterio más relevante para establecer tratamientos adecuados que permitan disminuir la progresión y muerte por CCT de vejiga.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Familia de proteínas CD44

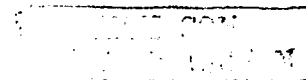
La molécula de CD44 corresponde a un grupo de proteínas transmembrana que actúa como receptor para componentes de la matriz extracelular. La habilidad del CD44 para asociarse al citoesqueleto y unirse a componentes de la matriz extracelular (MEC), fibronectina, colágena I, IV y ácido hialurónico entre otros, permite que se describa como un receptor de MEC tipo III.

Estructura de CD44

CD44 es el producto de un gen localizado en el brazo corto del cromosoma 11. La molécula de CD44 es codificada por 20 exones. Los primeros 1-5, así como los exones 16-20 se expresan en gran número de células no epiteliales, su producto es referido como la forma estándar. Los exones 6-15 se transcriben a través del proceso de corte y empalme alternativo lo que da gran heterogeneidad a los productos de este gen. Estos últimos exones son conocidos como variantes V1-V10 y son capaces de expresarse en forma individual (Fig 2).³¹

La molécula de CD 44 puede subdividirse en cuatro regiones diferentes. La región amino terminal localizada en el dominio extracelular es codificada por los exones 1-5, tiene forma de asas globulares gracias a las uniones disulfuro que se forman entre tres pares de residuos de cisteína que tiene este dominio. En este dominio hay regiones en las que se pueden unir glicoproteínas, como por ejemplo en el producto del exón 5 pueden unirse dos cadenas de condroitín sulfato, y en los exones 2 y 5 hay dos sitios de unión para ácido hialurónico.

El dominio cercano a la membrana es codificado por los exones 16 y 17 y contienen los sitios de inserción para los productos de los exones variables.³²



Por lo menos 3 de los productos de los exones variables tienen sitios de unión para heparán sulfato y condroitin sulfato, entre estos están la variante 3, y la variante 10. Antígenos H de grupo sanguíneo pueden unirse a la variante 6.

El dominio transmembrana es codificado por el exón 18.

El componente citoplasmático de la molécula de CD44 puede presentar versiones cortas o largas ya que los exones 19 y 20 son susceptibles de variar en tamaño por el fenómeno de corte y empalme alternativo.³³ En el dominio citoplasmático hay cuatro residuos de serina que son sustratos potenciales para varias cinasas, existiendo homología entre esta parte de CD44 y secuencias encontradas en la familia de las proteínas G. La ankirina, molécula que facilita la unión con actina se une al dominio citoplasmático de la molécula de CD44 a través de dos sitios de unión que se encuentran entre los aminoácidos 305 y 355.³⁴

Interacción con componentes de la matriz extracelular

Una de las funciones más importantes del CD44, es ser receptor del ácido hialurónico. El ácido hialurónico es uno de los pocos componentes de la MEC que se unen al CD44 en forma específica, esta unión no es constitutiva y puede ser modulada.

Varias funciones se han atribuido al ácido hialurónico como son: inmovilización del agua en la MEC, proliferación, migración y diferenciación celular.³⁵ La unión de CD44 con ácido hialurónico interviene en la agregación celular, liberación de citocinas y activación de linfocitos. Otros eventos asociados con esta unión han sido descritos, incluyen degradación de ácido hialurónico, motilidad celular y señalización intracelular.³²

La forma estándar de CD44 se une adecuadamente al ácido hialurónico, mientras que la afinidad de algunas isoformas que expresan exones variantes es menor, por ejemplo la unión de la v3 con condroitin sulfato o heparán sulfato puede tener un efecto adverso en la unión con ácido hialurónico.

La interacción de células positivas a CD44 con el ácido hialurónico también depende de que la molécula de CD44 se mantenga unida a la membrana plasmática. Isoformas de CD44 que contengan las variantes 7-10 son liberadas fácilmente al espacio extracelular probablemente como resultado de la separación proteolítica de CD44 en la unión entre los dominios citoplasmáticos y transmembrana.³²

El dominio citoplasmático es esencial en la unión al ácido hialurónico y para la movilidad celular mediada por esta interacción, este proceso implica el agrupamiento de moléculas de CD44 en la superficie de la célula.³⁶ La afinidad de esta interacción también depende del tamaño del ligando, mientras la cadena del polímero es mayor se incrementa su afinidad por el CD44.

En la unión de la célula con colágena tipo I, laminina y fibronectina también interviene CD44, pero depende de la unión con condroitín sulfato. Estas interacciones pueden ser mediadas por isoformas que contienen los exones variantes, como en algunas células de carcinoma de colon que expresan la isoforma epitelial, que incluye las variantes 8-10, y que se unen con colágena tipo IV y laminina.⁷ Otro componente, la serglicina (el proteoglicano sulfatado de los gránulos secretores de los leucocitos) ha sido identificado como ligando de CD44, esta puede ser liberada por exocitosis e interactuar con CD44 en la membrana celular, desencadenando la activación de linfocitos, sin embargo, esta unión depende de las cadenas de condroitín sulfato con las que se asocia la serglicina.³⁸ También ha sido descrita la interacción de heparán sulfato a la variante 3 de CD44, contribuyendo así a la unión con factores de crecimiento como el factor de crecimiento epidérmico unido a heparina y el factor de crecimiento fibroblástico básico.³⁹

Interacción con componentes intracitoplasmáticos

Las conexiones del CD44 con el citoesqueleto son dinámicas. Existe evidencia de que el CD44 se une a ankirina, que conecta la porción submembranosa de la



célula con la malla de filamentos de actina. El dominio de unión a la ankirina de la porción intracitoplásmica de CD44 contiene por lo menos dos regiones que reconocen al ligando con diferente afinidad. El dominio de unión a la ankirina es necesario para la unión al ácido hialurónico, esto sugiere que las funciones intracelulares y extracelulares del CD44 están conectadas.⁴⁰

Tanto la forma estándar de CD44 como las isoformas con variantes 9 y 10 se asocian con los miembros de la familia ERM (ezrin-radixin-moesin), estas proteínas están relacionadas con las conexiones actina-membrana, como la formación de vellosidades y uniones adherentes.⁴¹

Expresión de CD44 en los tejidos

Generalmente la mayoría de los tejidos epiteliales y no epiteliales expresan la forma estándar de CD44. Los tejidos adultos en los que no se ha detectado la expresión de la forma estándar o alguna de sus variantes son: epéndimo, epitelio de los plexos coroides, epitelio superficial del estómago e intestino, hepatocitos, porción endócrina del páncreas, células acinares de páncreas, suprarrenales, túbulos proximales y colectores del riñón, cápsula de Bowman, células germinales, músculo estriado, células de Sertoli y astrocitos.³²

Casi todas las células del tejido conectivo como fibroblastos, células endoteliales y macrófagos contienen grandes cantidades de la forma estándar de CD44.

Los tejidos epiteliales difieren en forma importante en lo que se refiere a la expresión de isoformas, pero generalmente los productos de v9 se expresan en forma paralela con la forma estándar (Tabla II). En tejidos epiteliales las isoformas con variantes tienden a expresarse más en las células con mayor índice de proliferación.⁴²

Tabla II

Tejido	Isoforma o variante de CD44
Epitelio de mama	Epitelial
Mioepiteliales de mama	V6
Base epitelio escamoso	V6
Base epitelio transicional	V4, V6, V9
Conductos de glándulas	V6
Base de epidermis	V2-V10
Base criptas colónicas	Estándar, V5, V7, V9

Progresión tumoral y CD44

La participación de CD44 en la progresión tumoral y metástasis fue documentada por primera vez en modelos animales. Se estableció durante la investigación de determinantes antigénicos que discriminaban entre subclonas de células de adenocarcinoma con y sin potencial de metástasis, así identificaron a una proteína específica de las células metastásicas que contenía el producto del exon variante 6 de CD44,⁴³ posteriormente se demostró que los carcinomas de colon y mama se asociaban a la generación de una gran cantidad de isoformas de CD44.⁴⁴

La observación de varias lesiones melanocíticas que incluían desde nevos hasta metástasis de melanoma demostraron un patrón complejo de expresión de CD44. Se pudieron detectar en algunos nevos isoformas resultado del corte y empalme alternativo y v5; la expresión de estos se incrementaba en lesiones malignas.⁴⁵ En líneas celulares hay una relación estrecha entre la unión con ácido hialurónico y la agresividad de las células de melanoma, células con CD44 mutado que no reconoce al ácido hialurónico presentan disminución evidente de su agresividad.⁴⁶ Por otra parte, en melanoma sinonasal la expresión por inmunohistoquímica de la v3 y v6 de CD44 muestra diferencias en la forma in situ en relación al

melanoma con invasión profunda, perdiéndose la expresión de estas variantes en esta última.⁴⁷

Los adenomas y adenocarcinomas de colon presentan isoformas de CD44 que contienen diferentes secuencias codificadas por los exones v3-v10, no observadas en mucosa colónica normal. La variante 6 se expresa en poco porcentaje de lesiones adenomatosas (17%), mientras que en los carcinomas avanzados (Duke C o D) su expresión alcanza hasta el 82%.⁴⁸ Mulder en un análisis retrospectivo de pacientes con carcinoma colorectal observó que la expresión de la v6 de CD44 fue factor de mal pronóstico independiente del estadio.⁴⁹

El carcinoma gástrico fue el primer tumor en el que se analizó la expresión de las isoformas de CD44. Mayer observó una correlación significativa entre la presencia de v9 y metástasis a distancia, recurrencia tumoral e incremento en la mortalidad.⁵⁰ Por otra parte, en 418 carcinomas gástricos Muller identificó que la expresión de v5 pero no de v6 se asoció al tipo difuso, menor grado de diferenciación, estadios avanzados e invasión vascular; sin embargo esta expresión no fue un factor pronóstico de sobrevida.⁵¹

También en neoplasias de pulmón ha sido evaluada la expresión de CD44 y sus variantes. Ariza comparó la expresión de carcinomas indiferenciados de células pequeñas y carcinomas de células no pequeñas (epidermoides y adenocarcinomas) en pulmón. De los 11 carcinomas de células pequeñas ninguno mostró expresión de v3 y v6 de CD44 a diferencia de 18 de 24 carcinomas epidermoides que fueron positivos para estas isoformas.⁵²

En carcinomas de cervix se ha visto aumento en la expresión de isoformas que contienen v3-v10, incremento en la producción y exposición de las variantes y cambio en las variantes en relación al cervix no neoplásico.⁵³

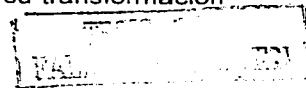
En cervix normal se demostró la expresión de v3, v6 y forma estándar de CD44 en las células de la base del exocervix y en menor intensidad en células de la

base de glándulas endocervicales, y en la mayoría de las neoplasias intraepiteliales la expresión de estas isoformas fue semejante al epitelio normal. En las lesiones invasoras, se identificó expresión en membrana para la forma estándar, v3 y v6; en algunos casos la reactividad disminuyó en las áreas con invasión al estroma. Los valores de v3, v6 y forma estándar de CD44 en carcinomas invasores fueron menores que en epitelio normal o en neoplasia intraepitelial cervical.⁵⁴

Al estudiar la expresión de CD44 en endometrio Saegusa observó que el porcentaje de expresión en hiperplasia era mayor que en endometrio normal, y que ambos presentaban menor expresión que los carcinomas. No encontró asociación en la expresión de v3, v6 y forma estándar de CD44 con factores pronósticos conocidos de carcinoma de endometrio.⁵⁵

La expresión de v6 de CD44 se ha estudiado en cáncer de urotelio. Hong observó que las neoplasias bien diferenciadas expresaban cadherina E y v6 de CD44, mientras que las neoplasias invasoras poco diferenciadas disminuían su expresión para ambas moléculas, sin embargo en ese estudio no se pudo predecir sobrevida ni recurrencia de tumor con la expresión de estas moléculas.⁵⁶ Ross en 44 casos de carcinoma de vejiga observó que la expresión de CD44 estándar y CD44 v6 disminuyó en relación a la poca diferenciación del tumor y al estadio avanzado.⁵⁷ por su parte Sugino observó que todos los carcinomas superficiales mostraron reactividad para la forma estándar y las variantes 5 y 6 de CD44, mientras que 10 de los 15 invasores fueron negativos para esas isoformas.⁵⁸ En el estudio realizado por Icskowski 10 de los 10 pacientes con carcinoma T3 expresaron la v6 de CD44 en más del 50% de las células neoplásicas.⁵⁹

El análisis de la expresión de isoformas de CD44 en la progresión tumoral no ha mostrado datos del todo concluyentes. Hay cierta tendencia a observar que tumores originados en tejidos que expresan isoformas antes de su transformación



maligna, muestran disminución en la expresión de estas. Contrariamente, los tumores originados de tejidos negativos a las isoformas, muestran sobreexpresión.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

JUSTIFICACIÓN

El carcinoma de células transicionales comprende un gran espectro de neoplasias con comportamientos clínicos y biológicos diversos, las características histopatológicas y clínicas de las neoplasias no siempre pueden predecir la evolución clínica de esta enfermedad.

El reconocer adecuadamente estas neoplasias tiene un impacto muy importante en el tratamiento y pronóstico de los pacientes, ya que las neoplasias superficiales son tratadas en forma local, con resección transuretral, quimioterapia ó inmunoterapia intravesical; y la sobrevida de estos pacientes a cinco años es casi del 100%. Por otra parte, las neoplasias que invaden la muscular propia requieren tratamiento más radical con cistectomía y en caso de metástasis se da quimioterapia sistémica, aún así, la sobrevida a dos años es del 50%.

El conocimiento de factores moleculares asociados a invasión darán pauta a estudios que permitan conocer factores pronósticos de progresión neoplásica y se tendrán más elementos para marcar terapias adyuvantes o más agresivas en forma temprana.

El identificar estos factores a través de técnicas accesibles en laboratorios de diagnóstico histopatológico permite que se puedan realizar en forma rutinaria.

TESIS CON
FALLA DE CALIDAD

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

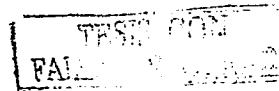
La expresión de variantes de CD44 se ha visto relacionada en algunas neoplasias a estadios avanzados o metástasis, por ejemplo en carcinoma colorrectal se ha observado que la expresión de la v6 de CD44 es un factor de mal pronóstico independiente al estadio. En carcinoma gástrico Mayer observó asociación significativa entre la presencia de v9 de CD44 y metástasis a distancia, recurrencia tumoral e incremento en la mortalidad ^{49,50}.

La expresión de variantes de 3, 6 y 9 de CD44 podrían ser factores que se asocian a comportamiento agresivo en carcinomas de células transicionales de vejiga. Por esto nos planteamos la siguiente pregunta:

¿Existe asociación entre la expresión de las variantes 3, 6 o 9 de CD44 y la invasión a la muscular propia en los carcinomas de células transicionales de vejiga ?

HIPÓTESIS

Los carcinomas de células transicionales de vejiga con invasión a la muscular propia presentan diferencias en la expresión de las variantes 3, 6 y 9 de CD44 en relación a los carcinomas de células transicionales de vejiga sin invasión a la muscular propia.



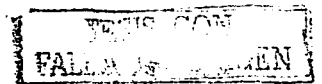
OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar si existe asociación entre la expresión de las variantes 3, 6 y 9 de CD44 y la invasión a la muscular propia en los carcinomas de células transicionales de vejiga

Objetivos específicos

1.1 Evaluar si existen diferencias en la expresión por inmunohistoquímica de las variantes 3, 6 y 9 de CD44 entre los carcinomas de células transicionales de vejiga con y sin invasión a la muscular propia.



MATERIAL Y METODOS

LUGAR DE ESTUDIO

Hospital de Oncología de CMN SXXI de tercer nivel de atención médica, con cobertura a población derechohabiente del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), del sur de la Ciudad de México y estados adyacentes del suroeste

TIPO DE ESTUDIO

Estudio transversal analítico.

POBLACIÓN DE ESTUDIO

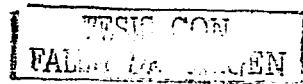
Pacientes con diagnóstico histopatológico de carcinoma de células transicionales de vejiga, atendidos en el Hospital de Oncología de CMN SXXI.

Criterios de inclusión

Pacientes con diagnóstico histopatológico de carcinoma de células transicionales de vejiga, de cualquier edad, que fueron referidos para su atención al Hospital de Oncología entre 1995 y 2000.

Criterios de exclusión

Casos con los que no se cuente con bloques de parafina o material histológico completo.



Grupos comparativos

1. Neoplasias con diagnóstico histopatológico de carcinoma de células transicionales de vejiga, con invasión a la muscular propia.
2. Neoplasias con diagnóstico histopatológico de carcinoma de células transicionales de vejiga, sin invasión a la muscular propia.

VARIABLES

Variable dependiente

Variable: Invasión a la muscular propia.

Tipo de variable: Cualitativa nominal.

Definición conceptual: Irrupción de la neoplasia a la capa muscular propia de la vejiga.

Definición operativa: Presencia de células neoplásicas en la muscular propia identificado con microscopio de luz, en laminillas teñidas con hematoxilina y eosina.

Escala de medición: Nominal.

Categorías: Positivo, Negativo.

Variables independientes

Variable: Expresión de CD44 variante 3

Tipo de variable: Cualitativa nominal

Definición conceptual: Manifestación de presencia de la molécula CD44 v3 en las células neoplásicas.

Definición operativa: Expresión citoplasmática o de membrana en células neoplásicas de la variante 3 de CD44 detectadas por estudio de inmunohistoquímica, observadas con microscopio de luz a 40X. Se determina el porcentaje de células neoplásicas que presentan reacción cuando se evalúa el corte representativo de la neoplasia.

Escala de medición: Nominal.

Categorías: Expresión en más del 50% de células neoplásicas

Expresión en menos del 50% de células neoplásicas.

Variable: Expresión de CD44 variante 6

Tipo de variable: Cualitativa nominal

Definición conceptual: Manifestación de presencia de la molécula CD44 v6 en las células neoplásicas.

Definición operativa: Expresión citoplasmática o de membrana en células neoplásicas de la variante 6 de CD44 detectadas por estudio de inmunohistoquímica, observadas con microscopio de luz a 40X. Se determina el porcentaje de células neoplásicas que presentan reacción cuando se evalúa el corte representativo de la neoplasia.

Escala de medición: Nominal.

Categorías: Expresión en más del 50% de células neoplásicas

Expresión en menos del 50% de células neoplásicas.

Variable: Expresión de CD44 variante 9

Tipo de variable: Cualitativa nominal

Definición conceptual: Manifestación de presencia de la molécula CD44 v9 en las células neoplásicas.

Definición operativa: Expresión citoplasmática o de membrana en células neoplásicas de la variante 9 de CD44 detectadas por estudio de inmunohistoquímica, observadas con microscopio de luz a 40X. Se determina el porcentaje de células neoplásicas que presentan reacción cuando se evalúa el corte representativo de la neoplasia.

Escala de medición: Nominal.

Categorías: Expresión en más del 50% de células neoplásicas

Expresión en menos del 50% de células neoplásicas.

Otras variables

Variable: Grado histológico

Tipo de variable: Cualitativa ordinal

Definición conceptual: Valor, calidad en relación de menor a mayor grado.

Definición operativa: Gradificación de los carcinomas de células transicionales de acuerdo a la OMS ⁶ en grado 1, 2 y 3 observados con microscopio de luz en laminillas teñidas con hematoxilina y eosina.

Escala de medición: Ordinal.

Categorías: 1, 2 y 3.

Variable: Expresión de p53

Tipo de variable: Cualitativa nominal

Definición conceptual: Manifestación de presencia de la molécula p53 en las células neoplásicas.

Definición operativa: Expresión nuclear en células neoplásicas de la proteína p53 detectadas por estudio de inmunohistoquímica, observadas con microscopio de luz a 40X. Se determina el porcentaje de células neoplásicas que presentan reacción cuando se evalúa el corte representativo de la neoplasia.

Escala de medición: Nominal.

Categorías: Expresión en más del 10% de células neoplásicas

Expresión en menos del 10% de células neoplásicas.¹²

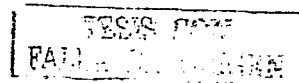
Variable: Patrón de crecimiento

Tipo de variable: Cualitativa nominal

Definición conceptual:

Definición operativa: Característica arquitectural de la neoplasia observada con microscopio de luz en laminillas teñidas con Hematoxilina y Eosina. Papilar cuando la neoplasia tiene tallos fibrovasculares rodeados por células uroteliales.

Infiltrante cuando existen grupos de células neoplásicas que crecen en el



estroma de la pared vesical, incluye patrón endofítico, formación de trabéculas, nidos, mantos sólidos, infiltración de células individuales, formación de lenguetas.⁶⁰ Papilar-infiltrante cuando hay combinación de los dos patrones anteriores.

Escala de medición: Nominal

Categorías: Papilar

Papilar -infiltrante

Infiltrante

Variable: Tumor recurrente

Tipo de variable: Cualitativa nominal

Definición conceptual: Recurrente, dicese de lo que vuelve a ocurrir o a aparecer, especialmente después de un intervalo.

Definición operativa: Neoplasia que ocurre después de haber sido tratada la lesión primaria con resección transuretral, manifestando por cistoscopia presencia de actividad tumoral en vejiga.

Escala de medición: Nominal

Categorías: Si

No

Variable: Mucosa adyacente a la neoplasia

Tipo de variable: Cualitativa nominal

Definición conceptual: Característica de la mucosa no neoplásica cercana al carcinoma de células transicionales de vejiga.

Definición operativa: Características histopatológicas de la mucosa no neoplásica adyacente al carcinoma de células transicionales de vejiga observadas con microscopio de luz en material teñido con hematoxilina y eosina. Se distinguen cuatro categorías: 1 Mucosa normal mantiene el urotelio columnar a oval, con núcleos perpendiculares a la membrana basal sin cambios nucleares aparentes. 2 Cambios inflamatorios, presenta incremento en el tamaño nuclear, ligera

hipercromasia nuclear, infiltración por neutrófilos o células mononucleares en la lámina propia de mucosa la adyacente al tumor. 3 Displasia de bajo grado tiene pérdida de la polaridad nuclear, núcleos redondeados frecuentemente paralelos al eje mayor de la mucosa, irregularidad nuclear, incremento en el tamaño nuclear, nucleolo y mitosis aparentes. 4 Displasia de alto grado-Carcinoma in situ se observan cambios nucleares acentuados con pérdida de la polaridad, irregularidad nuclear, pleomorfismo, nucleolos y mitosis aparentes, se pueden observar los siguientes patrones de carcinoma in situ: Células pequeñas, células grandes, denudado, pagetoide.

Escala de medición: Nominal

Categorías: Mucosa normal

Mucosa con cambios inflamatorios

Mucosa con displasia de bajo grado

Mucosa de alto grado-carcinoma in situ

DESARROLLO GENERAL DEL ESTUDIO

Del archivo de la unidad de patología del Hospital de Oncología de CMN SXXI se obtuvieron los casos de pacientes diagnosticados como carcinoma de células transicionales de vejiga en el periodo de enero de 1995 a diciembre del 2000. Del archivo clínico se revisaron los expedientes de los pacientes capturados para recabar datos generales como edad, género, recurrencias.

Las laminillas con material histológico fueron revisadas por dos patólogos en forma independiente para confirmar el diagnóstico de carcinoma de células transicionales, evaluar estadio de la neoplasia, grado histológico de acuerdo a los criterios de la OMS⁶, patrón de crecimiento de la neoplasia, características de la mucosa adyacente, invasión vascular y perineural. De este material se eligieron los cortes representativos de cada lesión para realizar las reacciones de inmunohistoquímica para las variantes 3, 6 y 9 de CD44 y para p53.

Las laminillas a las que se realizó inmunohistoquímica se evaluaron en un microscopio de luz a 40x para determinar el porcentaje de células neoplásicas que mostraron tinción café ocre en membrana o citoplasma para las variantes de CD44, y el porcentaje de células neoplásicas que mostraron tinción nuclear para p53.

Técnica de inmunohistoquímica

Para realizar la técnica de inmunohistoquímica se usaron cortes de 5 micras montados en laminillas con poli-L-lisina que se desparafinaron y rehidrataron. Se realizó exposición de antígenos con horno de microondas por 10 minutos en el sistema retrieval DAKO. La peroxidasa endógena se bloqueó con peróxido de hidrógeno al 10% en metanol por 30 minutos a temperatura ambiente. El bloqueo de uniones inespecíficas del anticuerpo primario se realizó con albúmina al 5% por 30 minutos a temperatura ambiente. Los anticuerpos primarios anti CD44 v6 clona

MAB4073 (CHEMICON) a dilución 1:300, anti CD44 v9 clona C2398-63 (US Biological) a dilución 1:1000, anti CD44 v3 (CHEMICON) a dilución 1:250, anti P53 DO-7 (DAKO) a dilución 1:100 fueron incubados a 4°C toda la noche. Se utilizó un sistema de detección peroxidasa-antiperoxidasa, DAKO Envision que fue incubado 30 minutos a temperatura ambiente. El revelado de la reacción se realizó con diaminobenzidina (DAKO), y se contrastó con hematoxilina. Entre cada paso se realizaron lavados con buffer de fosfatos.

ANALISIS ESTADISTICO

A través de tablas de contingencia se determinaron las proporciones de pacientes con y sin invasión a la muscular propia en las diferentes categorías de las características histopatológicas evaluadas.

Se realizaron curvas ROC (fig 3) para determinar el mejor punto de corte para evaluar la expresión de las variantes 3,6 y 9 de CD44 . Una vez determinado este se hicieron tablas de contingencia con la expresión de las variantes 3, 6 , 9 y p53 para identificar la proporción de neoplasias con y sin invasión a la muscular propia que expresaron a este punto de corte estos marcadores.

Para evaluar la asociación entre las características histopatológicas y la expresión de CD44 v3, v6, v9 y p53, se realizó la prueba de X^2 , la magnitud de la asociación entre las características se determinó obteniendo el OR con intervalo de confianza del 95%. Las características que estadísticamente fueron diferentes entre los carcinomas invasores y los superficiales se tomaron en cuenta para realizar un análisis de regresión logística .

Se evaluó a través de tablas de contingencia y con análisis bivariado de X^2 la asociación entre las variables histopatológicas y expresión de CD44 v 3,6 , 9 y p53 con los tumores recurrentes.

Se utilizó un valor de $p < 0.05$ para considerar los resultados estadísticamente significativos.

RESULTADOS

Características clínicas

Se obtuvieron 118 pacientes, 91 hombres y 27 mujeres (relación 3:1). De los 118 pacientes se analizaron 152 neoplasias, 54 con invasión a la muscular propia y 98 sin invasión. En 139 neoplasias se obtuvo la información que indicaba si las lesiones eran primarias o no. Sesenta y cuatro tumores fueron primarios y 75 recurrentes. La mediana de edad en los pacientes con carcinomas invasores fue de 68 años y en los pacientes con carcinomas superficiales fue de 63, existiendo una diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos (Tabla 1).

Datos histopatológicos

Las características histopatológicas evaluadas en las neoplasias se presentan en la tabla 2.

Grado histológico. Ocho carcinomas superficiales fueron grado 1, no se observaron tumores con invasión a la muscular con este grado. Grado 2 se identificó en el 40% y 57% de los carcinomas con y sin invasión a la muscular propia respectivamente. El grado 3 fue más frecuente en las neoplasias con invasión muscular, presentándose en el 96% de estas y en el 34% de las superficiales.

Invasión a los vasos se vio en el 28% de los carcinomas invasores y en el 7% de los superficiales.

Patrones de crecimiento. El patrón papilar puro se identificó en 4% de los carcinomas invasores y 72% de los superficiales; el patrón mixto estuvo presente en 40% de las neoplasias invasoras y en 19% de las superficiales.

El crecimiento infiltrante fue más frecuente en las neoplasias que invadían la muscular propia, observándose en el 53% de estas y en el 7% de los carcinomas superficiales. En esta forma de crecimiento se observaron patrones diversos como formación de nidos, formación de cordones y trabéculas, presencia de

células aisladas en el estroma, y grupos de células formando mantos sólidos (figura 4). Hubo un caso con patrón mixto en el que se observaron cambios mixoides extensos en el estroma.

La mucosa adyacente al tumor solo se pudo evaluar en 70 casos. Los cambios displásicos o de carcinoma in situ se presentaron en el 56% de los carcinomas invasores y 29% de los superficiales.

En estas cuatro características, las diferencias observadas entre los carcinomas con invasión a la muscular propia y los carcinomas sin invasión fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$)

La expresión de las variantes de CD44 se observó predominantemente en la membrana de las células neoplásicas (figura 5), en algunos casos se identificó reacción citoplásmica. Las neoplasias que tuvieron un componente escamoso presentaron expresión intensa de las variantes de CD44 en la membrana de las células con diferenciación epidermoide.

En dos neoplasias en las que coincidió el patrón papilar y el infiltrante se observó ligera disminución en la intensidad de expresión de las variantes 6 y 9 de CD44 en el componente infiltrante.

En un nivel de corte al 50% en la expresión de las variantes de CD44, sólo se demostró diferencia entre los invasores y superficiales en la variante 9, observándose expresión en menos del 50% de las células neoplásicas en el 43% de los carcinomas invasores, en comparación con el 21% en los superficiales. Determinándose que los carcinomas que expresan CD44 variante 9 en menos del 50% de su población neoplásica tienen 2.3 veces el riesgo para ser invasores que aquellos que expresan CD44 variante 9 en más del 50% de las células (Tabla 3).

La expresión de p53 se evaluó analizando la expresión en el núcleo de las células neoplásicas, no hubo diferencia en la expresión de p53 entre los dos grupos de carcinomas, con y sin invasión a la muscular propia.

Al comparar la expresión de las variantes de CD44 entre los grados 1-2 y 3 de carcinomas de células transicionales totales, no se observaron diferencias (Tabla 4).

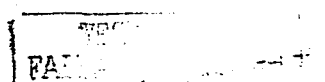
Entre las neoplasias primarias y recurrentes, no hubieron diferencias en las características histopatológicas, ni en la expresión de las variantes de CD44 entre los dos grupos (Tablas 5 y 6).

Al evaluar por separado neoplasias primarias y recurrentes, sólo en las lesiones primarias se observó asociación entre la disminución en la expresión de la v9 de CD44 e invasión a la muscular propia, siendo 4.9 veces mayor el riesgo de invasión al disminuir la expresión de CD44 v9. En las demás variantes no hubo diferencia en ninguno de los grupos (Tablas 7 y 8).

Al evaluar los casos en los que se contó con el tumor primario y el tumor recurrente del mismo paciente, no hubieron diferencias estadísticamente significativas en la expresión de las variantes de CD44 entre la neoplasia primaria y el tumor recurrente (Tabla 9).

Se realizó un análisis de regresión logística tomado en cuenta expresión de V3, V6 y v9 en menos del 50% de las células, grado histológico, características de la mucosa adyacente, invasión vascular y patrón de crecimiento, siendo la variable dependiente la invasión a la muscular propia. Ajustado para estas características la disminución en la expresión de la v9 y el patrón de crecimiento infiltrante siguen siendo características asociadas en forma significativa a la invasión a la muscular propia (Tabla 10).

Cuando se realizó el modelo de regresión en casos primarios y recurrentes, en los primeros el patrón de crecimiento y la expresión de la v9 siguen siendo



significativos. En los tumores recurrentes se identificó que sólo el patrón de crecimiento fue significativo.

En el grupo de neoplasias primarias, así como en el total de los tumores estudiados, la disminución en la expresión de la variante 9 ajustado para las variables grado histológico, características de la mucosa adyacente, patrón de crecimiento e invasión vascular mantiene su asociación significativa con la invasión a la muscular propia (Tabla 11).

De las neoplasias superficiales 58 fueron T1 y 40 Ta. La expresión en más del 50% de las células de la v6 fue mayor (77%) en los carcinomas Ta que en los T1 (48%) $p < 0.01$. En las otras variables no hubieron diferencias (Tabla 12).

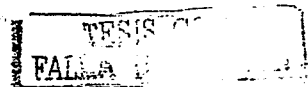
DISCUSION

Estudios clínicos y experimentales han demostrado que la función alterada de las moléculas de adhesión tiene un papel importante en el proceso de invasión y metástasis en neoplasias malignas.⁶¹ La relación entre expresión de CD44 y estadio del tumor varía entre cada órgano estudiado. No hay una relación sistemática entre las alteraciones en la expresión de CD44 y comportamiento maligno. Sin embargo, si se puede establecer que la actividad inapropiada de este gen es una característica de neoplasia en muchos órganos y tejidos.⁵⁸

En epitelio transicional de vejiga CD44 y sus variantes se expresan en la capa basal. En líneas celulares de cáncer de vejiga y en neoplasias de pacientes con CCT de vejiga la expresión de CD44 y sus isoformas se ve alterada.⁶² En estos tumores hay un defecto en el procesamiento postranscripcional que incluye el corte y empalme alternativo de los transcritos de CD44. Esto pudiera deberse a una alteración en el mecanismo de corte y empalme en las células con transformación maligna que se manifiesta en genes grandes en los que se lleva a cabo este procesamiento; también es posible que se deba a la sobresaturación del proceso de corte y empalme por un transcrito muy abundante debido a defectos en la regulación de ese gen.⁶³

A diferencia de otros órganos como colon y estómago en los que la sobreexpresión de variantes de CD44 ha sido relacionada a mal pronóstico, en vejiga los resultados han sido contradictorios ya que algunos estudios demuestran disminución en la expresión de las variantes en los carcinomas que invaden la muscular propia y otros no.

En este estudio se evaluaron algunas variantes de CD44 en CCT de vejiga (T1,Ta) y (T2-T4), las neoplasias con invasión a la muscular propia tuvieron menor expresión de la variante 9 de CD44, pero no se identificaron diferencias en las variantes 3 y 6 entre los carcinomas con y sin invasión a la muscular propia. Este



resultado contrasta con lo informado por Sugino, que al evaluar por inmunohistoquímica la expresión de la variante 6 de CD44 en 18 carcinomas de células transicionales papilares sin invasión, 15 infiltrantes y 4 mixtos (papilares e infiltrantes), observó disminución de la expresión en los infiltrantes. Llama la atención que en las neoplasias con patrón mixto la expresión en el componente papilar fue como se observó en las neoplasias papilares puras, y en las áreas infiltrantes hubo disminución heterogénea de la expresión de CD44 v6.⁵⁸ Este fenómeno podría estar indicando que la expresión de estas moléculas en vejiga está fuertemente regulada por las características del estroma en el que se encuentran las células.

Es de esperarse que el microambiente en el que se encuentran las células con patrón papilar sea diferente al de las células que infiltran la lámina propia y la muscular propia. Ya se ha demostrado que las células son capaces de modular la expresión de variantes de CD44 en respuesta a señales del ambiente. Por ejemplo, Stern en células de carcinoma de mama cultivadas con y sin ácido hialurónico, en las que los exones variantes no se detectaron después de haber sido incubadas las células con hialuronidasa.⁶⁴

También estar en contacto con diferentes concentraciones de enzimas que modifican la matriz extracelular como las metaloproteinasas puede modificar la expresión de las variantes de CD44 en las células neoplásicas, ya que estas enzimas permiten la liberación de la molécula de CD44 al espacio extracelular.⁶⁵

Cuando separamos las neoplasias superficiales de este estudio y analizamos la expresión de CD44, sólo en carcinomas T1 observamos disminución en la expresión de la variante 6 de CD44. Este hallazgo apoya lo observado por Toma quien identificó pérdida focal de la inmunorreacción para v6 de CD44 en carcinomas superficiales (Ta-T1).⁶⁶ Estas observaciones favorecen la idea de que el cambio en el microambiente dado por la invasión de las células neoplásicas al estroma modifica la expresión de las variantes de CD44 en carcinomas de vejiga.

Por su parte Hong en 115 casos de CCT de vejiga no observó asociación significativa entre la expresión de CD44 y estadio, pero sí con el patrón de crecimiento, determinando disminución de la expresión de la v6 de CD44 en las neoplasias con patrón infiltrante.⁵⁶

En los casos de CCT de pelvis renal y uretero estudiados por Masuda hubo disminución de la expresión de CD44 estándar y de v6 en estadios y grados avanzados; la v3 se asoció con grado histológico y no con estadio.⁶⁷ En nuestro estudio no se observaron diferencias en la expresión de la variante 3 en los diferentes estadios, ni grados histológicos. Cabe recordar que esta variante se une al heparán sulfato y contribuye a la unión con factores de crecimiento como el factor de crecimiento fibroblástico básico y el factor de crecimiento epidérmico unido a heparina, además tiene un efecto adverso en la unión con ácido hialurónico. Probablemente el mayor efecto de esta variante esté dado por su interacción con factores de crecimiento que induce la proliferación de células neoplásicas, independientemente de su potencial de invasividad.

Estos resultados contrastan con lo informado por Iczkowski que en diez de diez casos de CCT de vejiga T3 grado 3 observó expresión de CD44 v6 en más del 50% de las células neoplásicas.⁵⁹

En este estudio 75 neoplasias fueron recurrentes, 64 primarias y en 23 se desconoció esta información. El evaluar tumores recurrentes podría modificar los resultados ya que algunos pacientes fueron sometidos a tratamientos intravesicales con quimioterapia o inmunorreguladores. Sin embargo al comparar neoplasias recurrentes con primarias no se obtuvieron diferencias significativas en relación a la expresión de variantes de CD44, grado histológico, patrón de crecimiento o características de la mucosa adyacente.

Cuando analizamos sólo al grupo de lesiones primarias se mantuvo la asociación entre disminución en la expresión de v9 de CD44 e invasión a la muscular propia. Esto no ocurrió al evaluar a las lesiones recurrentes, probablemente por

modificaciones en el ambiente vesical posterior a tratamientos establecidos después de la presentación de la primer neoplasia.

Son escasos los estudios que analizan la expresión de las variantes 3, 6 y 9 de CD44 en carcinomas de células transicionales de vejiga. La información aquí obtenida nos muestra que la infiltración a la lámina propia o a la muscular propia por las células neoplásicas disminuye la expresión de las variantes 6 y 9 de CD44 respectivamente. Habrá que evaluar si la expresión de estas moléculas son de utilidad en el diagnóstico de invasión a la lámina propia o muscular propia en carcinomas transicionales de vejiga.

Es probable que más que un factor que predice invasión, la expresión de las variantes 6 y 9 de CD44 sea consecuencia a los cambios en el microambiente dados por el proceso de invasión.

El estroma de carcinomas en las áreas papilares no infiltrantes, con infiltración a la lámina propia, y a la muscular propia podrían tener concentraciones diferentes de ácido hialurónico, colágena, metaloproteinasas y otros componentes de la MEC que envíen señales a la célula para que modifiquen la expresión de las variantes de CD44 (figura 5). Esta suposición la basamos en la observación de Sugino en los carcinomas con patrón mixto, en los que las áreas con patrón papilar mostraban sobreexpresión de la variante 6 de CD44 y las zonas infiltrantes no presentaban expresión o estaba disminuida.⁵⁸ Por otra parte, Ooms observó en forma indirecta que, entre la mucosa no neoplásica y la neoplásica, hay diferencias en la concentración de ácido hialurónico.⁶⁸ Será interesante investigar si las características del estroma en los diferentes estadios de carcinoma transicional (papilar no infiltrante, infiltración a la lámina propia, infiltración a la muscular propia) son diferentes para así apoyar nuestra hipótesis de que el microambiente modifica la expresión de las variantes de CD44 en carcinoma de células transicionales de vejiga.

El proceso de metástasis e invasión requiere de múltiples eventos que necesitan de la interacción secuencial entre la célula neoplásica y la matriz extracelular. El

incremento o disminución de una sola proteína no podría cubrir todas las posibilidades. La separación de las células del tumor primario requiere de disminución de la adhesividad con otras células o con la matriz extracelular. Por lo que para poder predecir en forma más adecuada el pronóstico del carcinoma de células transicionales de vejiga, otras proteínas relacionadas con invasión y metástasis, como proteasas, inhibidores de proteasas, otras moléculas de adhesión y factores de motilidad también tienen que ser investigados.⁵⁶

CONCLUSIONES

Los carcinomas de células transicionales de vejiga con invasión a la muscular propia presentan menor expresión de la v9 de CD44 que los carcinomas superficiales Ta-T1.

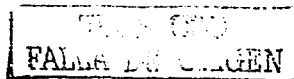
En los carcinomas de células transicionales superficiales hay menor expresión de la v6 de CD44 en los que invaden la lámina propia.

La expresión de la v3 de CD44 no se asoció con el estadio o grado histológico de los carcinomas de células transicionales de vejiga.

La disminución en la expresión de la variante 6 de CD44 en carcinomas superficiales y de CD44 variante 9 en carcinomas invasores a la muscular propia, podrían ser características que apoyen el diagnóstico de invasión a la lámina propia y a la muscular propia respectivamente, en carcinomas de células transicionales de vejiga.

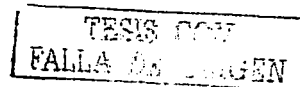
BIBLIOGRAFÍA

1. Parkin M, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: GLOBOCAN 2000. *Int J Cancer* 2001; 94:153-156.
2. Compendio del Registro Histopatológico de Neoplasias en México DGE/SSA. Morbilidad 1993-1997.
3. Carrol PR. Urothelial carcinoma: Cancers of the bladder ureter and renal pelvis. In: Tenagho EA, McAninch JW Editors. *Smiths general urology*. 14th edition. Norwalk CT. Appleton and Lange 1995: 353-371.
4. Beahrs OH, Hensen DE, Hunter RUP: American Joint Committee on Cancer: Manual for staging of cancer (ed 4). Philadelphia, PA. Lippincott, 1992.
5. International Union Against Cancer: TNM classification of malignant tumors (ed 4). Geneva, Switzerland, Springer-Verlag, 1987.
6. Mostofi FK, Sobin LH, Torloni H. Histological typing of urinary bladder tumors. International classification of tumours (no. 10). Geneva, World Health Organization, 1973.
7. Sprunck CH, Ohneseit P, González-Znlmeta M, Esring D, Miyao N, Tsai Y, Lerner S, Schmüte C, Yang A, Cote R, Dubeau L, Nichols P, Hermann G, Steven K, Horn T, Skinner D, Jones P. Two molecular pathways to transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer Res* 1994;54:784-788.
8. Hartmann A, Moser K, Kriegmair M, Hofstetter A, Hofstaedter F, Knuichel R. Frequent genetic alterations in simple urothelial hyperplasias of the bladder in patients with papillary urothelial carcinoma. *Am J Pathol* 1999;154(3):721-727.
9. Knowles M. The genetics of transitional cell carcinoma: progress and potential clinical application. *BJU International* 1999;84:412-427.
10. Orntoft T, Wolf H. Molecular alterations in bladder cancer. *Urol Res* 1998;26:223-233.
11. Cordon-Cardo C, Wartinger D, Petrylak D, Dalbagni G, Gair W, Fuks Z, Reuter VE. Altered expression of the retinoblastoma gene product: prognostic indicator in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1988;84:1251-1258.
12. Esrig D, Sprunck CH, Nichols P, Chaiwun B, Steven K, Groshen S, Chen S, Skinner D, Jones P, Cote R. P53 nuclear protein accumulation correlates with mutations in the P53 gene, tumor grade, and stage in bladder cancer. *Am J Pathol* 1993;143(5):1389-1397.
13. Pfister C, Flaman J, Martin C, Grise P, Frebourg T. Selective detection of inactivating mutations of the tumor suppressor gene p53 in bladder tumors. *J Urol* 1999;161:1973-1975.
14. Lutzeyer W, Rübben H, Dahm H. Prognostic parameters in superficial bladder cancer: An analysis of 315 cases. *J Urol* 1982;127:250-252.
15. Heney NM, Altmed S, Flanagan MJ, Frable W, Corder MP, Hafermann MD, Hawkins IR and for National bladder cancer collaborative Group A. Superficial bladder cancer: Progression and recurrence. *J Urol* 1983;130:1083-1086.



16. Kaubisch S, Lum BL, Reese J, Freiha F, Torti FM. Stage T1 bladder cancer: Grade is the primary determinant for risk of muscle invasion. *J Urol* 1991;146:28-31.
17. Prout GR, Barton BA, Griffin P, Friedell GH. Treated history of noninvasive grade 1 transitional cell carcinoma. The National Bladder Cancer Group. *J Urol* 1992;148:1413.
18. Kiemeny LA, Witjes JA, Heijbroek RP, Verbeek AL, Debruyne MJ. Predictability of recurrent and progressive disease in individual patients with primary superficial cancer. *J Urol* 1993; 150:60-64.
19. Leblanc B, Duclos AJ, Benard F, Côte L, Valiquette L, Paquin JM, Mauffette F, Faucher R, Perreault JP. Long-term follow up of initial Ta grade 1 transitional cell carcinoma of the bladder. *J Urol* 1999;162:1946-1950.
20. Stein JP, Grossfeld G, Ginsberg D, Esrig D, Freeman J, Figueroa A, kSkinner D, Cote R. Prognostic markers in bladder cancer. A contemporary review of the literature. *J Urol* 1998;160:645-659.
21. Pauwels RB, Scheepers RF, Smeets AW. Grading in superficial bladder cancer. Morphological criteria. *BJUrol* 1988;61:129-134.
22. Logothetis CJ, Xu H, Ro JY. Altered expression of retinoblastoma protein and known prognostic variables in locally advanced bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1988;84:1256-1261.
23. Uchida T, Wada C, Ishida H. P53 mutations and prognosis in bladder tumors. *J Urol* 1995;153:1097-1104.
24. Lipponen P. Over-expression of p53 nuclear oncoprotein in transitional-cell bladder cancer and its prognostic value. *Int J Cancer* 1993;53:365-370.
25. Lee CC, Yamamoto S, Morimura K, Wanibuchi H, Nishisaka N, Ikemoto S, Nakatani T, Wada S, Kishimoto T, Fukushima S. Significance of cyclin D1 overexpression in transitional cell carcinomas of the urinary bladder and its correlation with histopathology features. *Cancer* 1997;79:780-789.
26. Shin KY, Kong G, Kim WS, Lee TY, Woo YN, Lee JD. Overexpression of cyclinD1 correlates with early recurrence in superficial bladder cancers. *BJCancer* 1997;75:1788-1792.
27. Vollmer RT, Humphrey PA, Swanson PE, Wick MR, Hudson ML. Invasion of the bladder by transitional cell carcinoma. Its relation to histologic grade and expression of p53, MB-1, c-erbB-2, epidermal growth factor receptor and bcl-2. *Cancer* 1998;82:715-723.
28. Sgambato A, Migaldi M, Faraglia B, Garagnani L, Romano G, De Gaetani C, Ferrari P, Capelli G, Trentini G, Cittadini A. Loss of p27 expression correlates with tumor grade and with reduced disease-free survival in primary superficial bladder cancers. *Cancer Res* 1999;59:3245-3250.
29. Pizzo Del J, Borkowski A, Jacobs SC, Kyprianou N. Loss of cell cycle regulators p27 and cyclin E in transitional cell carcinoma of the bladder correlates with tumor grade and patient survival. *Am J Pathol* 1999;155:1129-1136.
30. Syrigos K, Krausz T, Waxman J, Pandha H, Rowlinson-Verne J, Epenetos A, Pignatelli M. E-cadherin expression in cancer using formalin-fixed paraffin embedded tissues: correlation with histopathological grade, tumor stage and survival. *Int J Cancer* 1995;64:367.

31. Screaton GR, Bell MV, Jackson DG, Crnelis FB, Gerth U, Bell JI. Genomic structure of DNA encoding the lymphocyte homing receptor CD44 reveals at least 12 alternatively spliced exons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:12160-12164.
32. Zbigniew R, Serge J. CD44 and the adhesion of neoplastic cells. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 1997;50:57-71.
33. Ponta H, Wainwright D, Herrlich P. The CD44 protein family. *Int J Bioch Cell Biol* 1998;30:299-305.
34. Lokeshwar VB, Bourguignon LY. The lymphoma transmembrane glycoprotein GP85 (CD44) is a novel guanine nucleotide-binding protein which regulates GP85 (CD44)-ankyrin interaction. *J Biol Chem* 1992;267:22073-22078.
35. Laurent TC, Fraser JRE. Hyaluronan. *FASEBJ* 1992;6:2397-2404.
36. Lesley J, He Q, Miyake K, Hamann A, Hyman R, Kincade R. Requirements for hyaluronic acid binding by CD44: a role for the cytoplasmic domain and activation by antibody. *J Exp Med* 1992;175:257-266.
37. Ishi S, Ford R, Thomas P, Nachman A, Steele GJr, Jessup JM. CD44 participates in the adhesion of human colorectal carcinoma cells to laminin and type IV collagen. *Surg Oncol* 1993;2:255-264.
38. Toyama-Sorimachi N, Sorimachi H, Tobita Y, Kitamura F, Yagita H, Suzuki K. A novel ligand for CD44 is serglycin, a hematopoietic cell lineage-specific proteoglycan. Possible involvement in lymphoid cell adherence and activation. *J Bio Chem* 1995;270:7437-7444.
39. Bennett KL, Jackson DG, Simon JC, Tanzocs E, Peach R, Modrell B. CD44 isoforms containing exon 3 are responsible for the presentation of heparin-binding growth factor. *J Cell Biol* 1995;128:687-698.
40. Lokeshwar VB, Fregien N, Bourguignon LY. Ankyrin-binding domain of CD44 (GP85) is required for the expression of hyaluronic acid-mediated adhesion function. *J Cell Biol* 1994;126:1099-1109.
41. Tsukita S, Oishi K, Sato N, Sagara J, Kawai A. ERM family members as molecular linkers between the cell surface glycoprotein CD44 and actin-based cytoskeletons. *J Cell Biol* 1994;126:391-401.
42. Mackay CR, Terpe HJ, Stauder R, Marston WL, Stark H, Günther U. Expression and modulation of CD44 variant isoforms in humans. *J Cell Biol* 1994;124:71-82.
43. Günther U, Hofmann M, Rudy, Reber S, Zoller M, Haussman I. A new variant of glycoprotein CD44 confer metastatic potential to rat carcinoma. *Cell* 1991;65:13-24.
44. Matsumura Y, Tarin D. Significance of CD44 gene products for cancer diagnosis and disease evaluation. *Lancet* 1992;340:1053-1058.
45. Manten-Horst E, Danen EH, Smit L, Snoek M, Le Poole IC, Van Muijen GN. Expression of CD44 splice variants in human cutaneous melanoma cell lines is related to tumor progression and metastatic potential. *Int J Cancer* 1995;64:182-188.
46. Bartolazzi A, Peach R, Aruffo A, Stamenkovic I. Interaction between CD44 and hyaluronate is directly implicated in the regulation of tumor development. *J Exp Med* 1994;180:53-66.



47. Regauer S, Ott A, Berghold A, Beham A. CD44 expression in sinonasal melanomas: Is loss of isoform expression associated with advanced tumor stage? *J Pathol* 1999;187:184-190.
48. Wielenga VJ, Heider KH, Offerhaus GJ, Adolf GR, van den Berg FM, Ponta H. Expression of CD44 variant proteins in human colorectal cancer is related to tumor progression. *Cancer Res* 1993;53:4754-4756.
49. Mulder JW, Kruyt PM, Sewnath M, Oosting J, Seldenryk CA, Weidema WF. Colorectal cancer prognosis and expression of exon v6 containing CD44 proteins. *Lancet* 1994;344:1470-1472.
50. Mayer B, Jauch KW, Günther U. De novo expression of CD44 and survival in gastric cancer. *Lancet* 1993;342:1019-1022.
51. Müller W, Schneiders A, Heider K, Meiers S, Hommel G, Gabbert H. Expression and prognostic value of the CD44 splicing variants v5 and v6 in gastric cancer. *J Pathol* 1997;183:222-227.
52. Ariza A, Maté JL, Isamat M, López D, van Uexküll-Güldeband C, Rosell R, Fernández-Vasalo A, Navas-Palacios JJ. Standard and variant CD44 isoforms are commonly expressed in lung cancer of the non-small cell type but not of the small cell type. *J Pathol* 1995;117:363-368.
53. Dall P, Heider KH, Hekele A, von Minckwitz G, Kaufmann M, Ponta H, Herrlich P. Surface protein expression and messenger RNA splicing analysis of CD44 in uterine cervical cancer and normal cervical epithelium. *Cancer Research* 1994;54:3337-3341.
54. Saegusa M, Hashimura M, Machida D, Okayasu I. Down-regulation of CD44 standard and variants isoforms during the development and progression of uterine cervical tumors. *J Pathol* 1999;187:173-183.
55. Saegusa M, Hoshimura M, Okayasu I. CD44 expression in normal hyperplastic and malignant endometrium. *J Pathol* 1998;297-306.
56. Hong RL, Pu Y, Hsieh T, Chu J, Lee W. Expression of E-cadherin and exon v6 containing isoforms of CD44 and their prognostic value in human transitional cell carcinoma. *J Urol* 1995;153:2025-2028.
57. Ross JS, del Rosario AD, Bui HX, Kallakury B, Osby NT, Figge J. Expression of the CD44 cell adhesion molecule in urinary bladder transitional cell carcinoma. *Mod Pathol* 1996;9:854.
58. Sugino T, Gorham H, Yoshida K, Bobdeoku J, Nargund V, Cranstan D, Goodison S, Tarin D. Progressive loss of CD44 gene expression in invasive bladder. *Am J Pathol* 1996;149:873-882.
59. Iczkowski KA, Shanks JH, Bostwick DG. Loss of CD44 variant 6 expression differentiates small cell carcinoma of urinary bladder from urothelial (transitional cell) carcinoma. *Histopathology* 1998;32:322-327.
60. Eble JN, Young RH. Carcinoma of the urinary bladder. A review of its diverse morphology. *Sem Diag Pathol* 1997;14:98-108.
61. Pignatelli M, Vessey C. Adhesion molecules: Novel molecular tools in tumor pathology. *Human Pathol* 1994;25:849-856.
62. Woolfman AC, Sugiyama M, Koshida K, Sugino T, Sorgya A, Goodison S, Matsumura Y, Tarin D. Analysis of anomalous CD44 gene expression in human breast, bladder and colon cancer and correlation of observed mRNA and protein isoforms. *Am J Pathol* 1996;149(5):1519-1530.

63. Matsumura Y, Sugiyama M, Matsumura S, Hayle A, Robinson P, Smith J, Tarin D. Unusual retention of introns in CD44 gene transcripts in bladder cancer provides new diagnostic and clinical oncological opportunities. *J Pathol* 1995;117:11-20.
64. Stern R, Shuster S, Wiley TS, Formty B. Hyaluronidase can modulate expression of CD44. *Exp Cell Res* 2001;266:167-176.
65. Kajita Hoh, Chiba T, Mori H, Okada A, Kinoh H, Seiki M. Membrane type 1 matrix metalloproteinase cleaves CD44 and promotes cell migration. *J Cell Biology* 2001;153:893-904.
66. Toma V, Hauri D, Schmid U, Ackerman D, Maurer R, Alund G, Knönagel H, Rist M, Gasser T, Sauter G, Roth J. Focal loss of CD44 variant protein expression is related to recurrence in superficial bladder carcinoma. *Am J Pathol* 1999;155(5):1427-1432.
67. Masuda M, Takano Y, Iki M, Makiyama K, Noguchi S, Hosaka M. Expression and prognostic value of CD44 isoforms in transitional cell carcinoma of renal pelvis and ureter. *J Urol* 1999;161:805-809.
68. Ooms EC, Blomjous CE, Artendijk JW, Veldhuizen RW, Blok AP, Heinhuis RJ, Boon ME. Connective tissue in bladder papillary transitional cell carcinoma. Carcinoma in situ and benign cystitis. *Histopathology* 1986;10:613-619.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 1
Carcinoma de células transicionales de vejiga

VARIABLE	n	INVASORES	SUPERFICIALES	P
Edad (mediana)		68	63	0.012*
Género				
Masculino	91	37	54	0.836
Femenino	27	12	15	
Número de Neoplasias	152	54	98	
Tumores recurrentes				
Si	75	17	58	.002*
No	64	30	34	
Desconocido	23	-	-	

* Estadísticamente significativo X^2



Tabla 2
Carcinoma de células transicionales de vejiga
Características Histopatológicas

	INVASOR (54)		SUPERFICIAL (98)		p	OR	I.C.
	Casos	%	Casos	%			
Grado n= 151							
1	0	-	8	(8)			
2	2	(4)	56	(57)	<0.001*	50.45	10.9 - 319.6
3	52	(97)	33	(34)			
Invasión vascular n= 152							
Si	15	(28)	7	(7)	0.001 *	5	1.7 - 14.8
No	39	(72)	91	(91)			
Patrón de crecimiento n= 151							
Papilar	4	(7)	72	(72)			
Papilar- Infiltrante	21	(40)	19	(19)	<0.001 *	33.9	10.3 - 123.4
Infiltrante	28	(53)	7	(7)			
Mucosa Adyacente n= 70							
Sin displasia/ In situ	14	(44)	32	(71)	0.016*	3.1	1.1 - 9.2
Displasia In situ	18	(56)	13	(29)			

* Estadísticamente significativo X²

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 3
Carcinoma de células transicionales de vejiga
Expresión de CD44 y P 53

	INVASOR		SUPERFICIAL		p	OR	I.C.
	Casos	%	Casos	%			
CD 44 V6							
n= 119							
> 50 %	25	(61)	46	(59)	0.833	0.5	0.2 - 1.1
< 50 %	16	(39)	59	(41)			
CD 44 V9							
n= 121							
> 50 %	25	(57)	61	(79)	0.009 *	2.9	1.1 - 7
< 50 %	19	(43)	16	(21)			
CD 44 V3							
n= 117							
> 50 %	20	(49)	46	(60)	0.222	1.6	0.7 - 3.7
< 50 %	21	(51)	30	(40)			
P 53							
n= 95							
> 10 %	14	(47)	22	(34)	0.231	1.7	0.6 - 4.5
< 10 %	16	(53)	43	(66)			

* Estadísticamente significativo χ^2

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 4
Carcinoma de células transicionales de vejiga
Expresión de CD44 y P 53 en diferentes grados

	GRADO 1 Y 2		GRADO 3		p	OR	I.C.
	Casos	%	Casos	%			
CD 44 V 6 (n= 119)							
> 50%	32	(61)	39	(58)	0.713	0.8	0.3 – 1.9
< 50%	20	(39)	28	(42)			
CD 44 V 9 (n= 121)							
> 50%	39	(78)	47	(66)	0.159	0.5	0.2 – 1.3
< 50%	11	(22)	24	(34)			
CD 44 V 3 (n= 117)							
> 50%	29	(56)	37	(57)	0.900	1.05	0.4 – 2.3
< 50%	23	(44)	28	(43)			
P 53 (n= 95)							
> 10 %	13	(30)	23	(44)	0.165	0.5	0.21 – 1.3
< 10 %	30	(70)	29	(56)			

* Estadísticamente significativos χ^2

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Tabla 5
Carcinoma de células transicionales de vejiga
Características Histopatológicas en recurrentes y primarios.

	PRIMARIO		RECURENTE		p	OR	I.C.
	Casos	%	Casos	%			
Grado	n= 64		n= 75				
1	3	(5)	5	(7)			
2	20	(31)	31	(45)	0.165	0.5	0.2 - 1.1
3	41	(64)	36	(48)			
Invasión vascular	n= 64		n= 75				
Si	12	(19)	8	(11)			
No	52	(81)	67	(89)	0.176	1.9	0.6 - 5.6
Patrón de Crecimiento	n=63		n=75				
Papilar	27	(43)	43	(57)			
Papilar- Infiltrante	21	(33)	18	(24)	0.234	0.5	0.2 - 1.1
Infiltrante	15	(24)	14	(19)			
Mucosa Adyacente	n=31		n= 39				
Sin displasia/ In situ	16	(48)	25	(68)	0.16	0.4	0.1 - 1.3
Displasia In situ	17	(52)	12	(32)			

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 6
Carcinoma de Células Transicionales de Vejiga
Expresión de CD 44 y P 53

	NO RECURRENTE		RECURRENTE		p	OR	I.C.
	Casos	%	Casos	%			
CD 44 V 6 (n=117)							
> 50%	33	(57)	37	(63)	0.52	0.78	0.3 – 1.7
< 50%	25	(43)	22	(37)			
CD 44 V 9 (n=118)							
> 50%	41	(69)	42	(71)	0.84	0.76	0.3 – 1.8
< 50%	18	(35)	14	(28)			
CD 44 V 3 (n=116)							
> 50%	35	(59)	30	(53)	0.468	1.3	0.5 – 2.9
< 50%	24	(41)	27	(47)			
P 53 (n=95)							
> 10 %	26	(51)	33	(75)	0.016 *	2.7	1.06 – 7.3
< 10 %	24	(49)	11	(25)			

* Estadísticamente significativos χ^2

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 7
Carcinoma de Células Transicionales de Vejiga
Expresión de Variantes de CD 44 en neoplasias primarias

	INVASOR		SUPERFICIAL		p	OR	I.C.
	Casos	%	Casos	%			
CD 44 V 6 (n= 56)							
> 50%	13	(54)	19	(59)	0.697	1.2	0.3 – 4.1
< 50%	11	(46)	13	(41)			
CD 44 V 9 (n= 57)							
> 50%	13	(52)	27	(84)	0.008 *	4.9	1.2 – 20.8
< 50%	12	(48)	5	(16)			
CD 44 V 3 (n= 47)							
> 50%	13	(52)	20	(63)	0.426	1.5	0.4 – 5.1
< 50%	12	(48)	12	(37)			

* Estadísticamente significativos χ^2

TESIS CON
 ALMA DE ORIGEN

Tabla 8
Carcinoma de Células Transicionales de Vejiga
Expresión de Variantes de CD 44 en Neoplasias recurrentes

	INVASOR		SUPERFICIAL		p	OR	I.C.
	Casos	%	Casos	%			
CD 44 V 6 (n= 59)							
> 50%	11	(73)	26	(59)	0.325	0.5	0.1 – 2.2
< 50%	4	(27)	18	(41)			
CD 44 V 9 (n= 59)							
> 50%	10	(63)	32	(74)	0.369	1.7	0.4 – 6.9
< 50%	6	(37)	11	(26)			
CD 44 V 3 (n= 57)							
> 50%	6	(40)	24	(57)	0.254	2	0.5 – 7.8
< 50%	9	(60)	18	(43)			

TRABAJO CON
 FOLIO DE CUBIEN

Tabla 9
Expresión de variantes de CD44 en carcinomas primarios
y su primera recurrencia

	PRIMARIO		RECURRENTE		p	OR	I.C.
	Casos	%	Casos	%			
CD 44 V 6 (n=11)							
> 50%	8	(80)	1	(100)	1.0	0	0.0 - 139.3
< 50%	2	(20)	0	(0)			
CD 44 V 9 (n=15)							
> 50%	8	(72)	2	(50)	0.5	2.6	0.15 - 54.7
< 50%	3	(28)	2	(50)			
CD 44 V 3 (n=12)							
> 50%	5	(71)	1	(20)	0.2	10	0.42 - 504
< 50%	2	(29)	4	(80)			

Tabla 10
Carcinoma de células transicionales de vejiga
Modelo de regresión logística

Variable	p	OR Multivariado*	IC
V9	0.017	12.53	1.5 - 100
Grado histológico	0.003	25.694	2.7 - 243
Patrón crecimiento	0.000	26.386	4.9 - 140

*Ajustado para 6 variables (V9, interacción de variantes, grado histológico, patrón de crecimiento e invasión vascular).

TESIS CON
 CALA DE ORIGEN

Tabla 11

**Carcinoma de células transicionales de vejiga
OR y OR ajustado de la expresión de V9 CD44
en neoplasias recurrentes y primarias**

Tipo de lesión	OR	IC	ORA*	IC
Primarios y recurrentes	1.55	1.05-2.28	12.53	1.5-100
Recurrentes	1.17	0.79-1.73	0.639	0.2-17
Primarios	2,29	1,06-4.94	401.6	2.73-58912

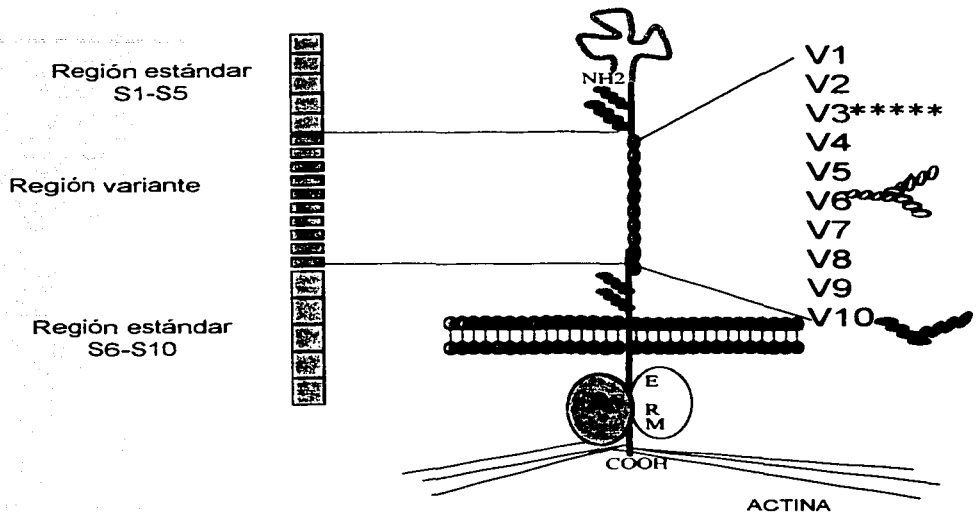
* Ajustado para 6 variables (V9 CD44, interacción de variantes de CD44, grado histológico, mucosa adyacente, patrón de crecimiento e invasión vascular).



Tabla 12
Carcinoma de Células Transicionales de Vejiga
Expresión de CD 44 y P 53 en lesiones superficiales

	Ta		T1		P	OR	I.C.
	Casos	%	Casos	%			
CD 44 V 6 (n=78)							
> 50%	23	(77)	23	(48)	0.012*	3.57	1.1 – 11.2
< 50%	7	(23)	25	(52)			
CD 44 V 9 (n=77)							
> 50%	23	(77)	38	(81)	0.659	0.7	0.2 – 2.7
< 50%	7	(23)	9	(19)			
CD 44 V 3 (n=76)							
> 50%	20	(64)	26	(58)	0.55	1.3	0.4 – 3.8
< 50%	11	(36)	19	(42)			
P 53 (n=65)							
> 10 %	15	(62)	28	(68)	0.634	1.2	0.3 – 4.2
< 10 %	9	(38)	13	(32)			

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

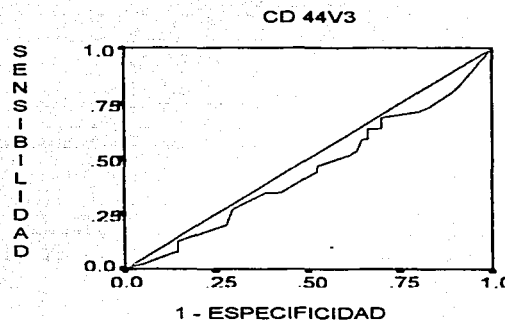
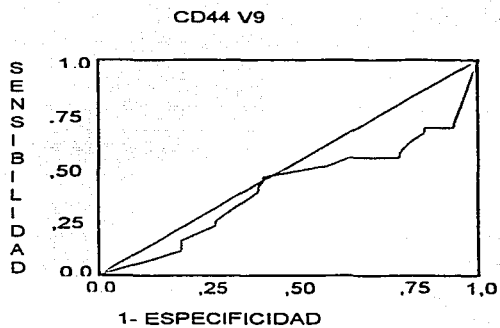
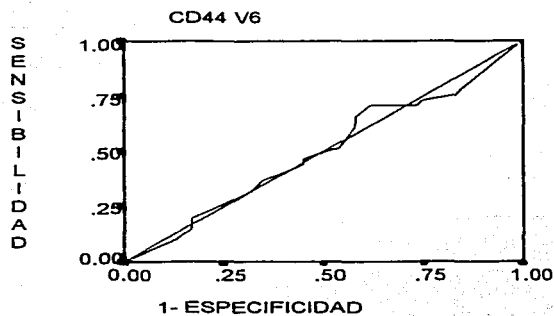
FIGURA 2



Estructura de CD44. Región globular distal con secuencias de unión a ácido hialurónico. Las secuencias de las regiones variantes (v1-v10) se pueden insertar en la porción proximal del dominio extracelular. El dominio intracelular interacciona con los filamentos de actina a través de la ankirina o miembros de la familia ERM.
 *Heparán sulfato,  antígeno H,  condroitín sulfato.

INSTITUTO VET
 FALCÓN DE BERGEN

FIGURA 3
CURVA ROC



INSTITUTO VENEZOLANO
DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS

FIGURA 4

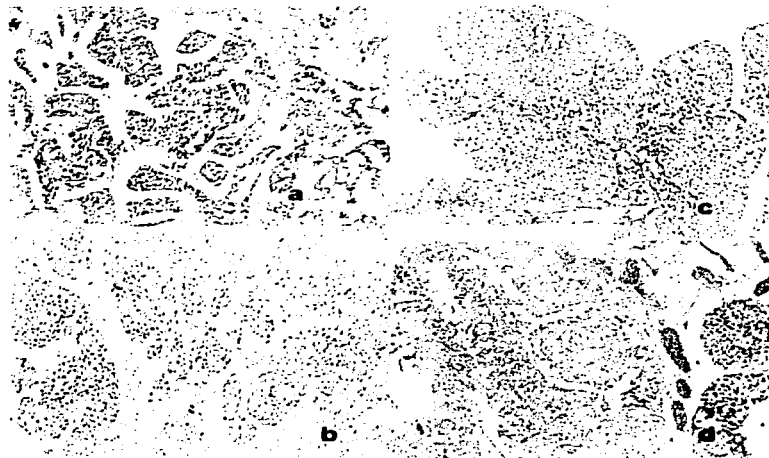


Figura4 . ay b patrón infiltrante del carcinoma de células transicionales de vejiga.
C y d patrón de crecimiento papilar del carcinoma de células transicionales.

UNIVERSIDAD DE ORIZABA

FIGURA 5

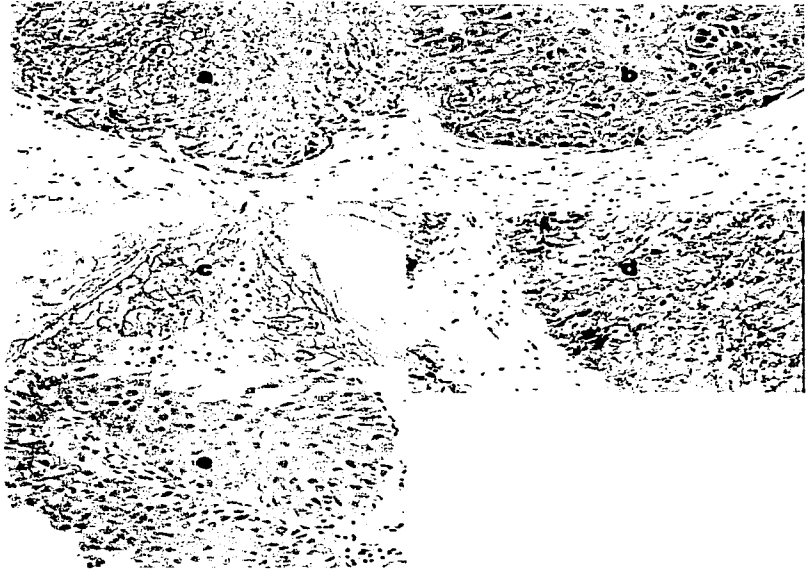
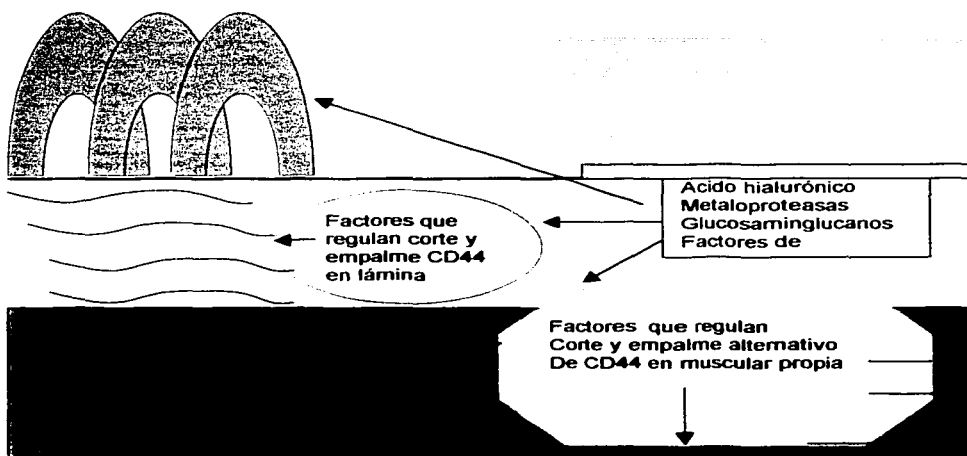


Figura 5. a expresión de CD44 v6 en membrana de células neoplásicas. b expresión de CD44 v9 en membrana citoplásmica de células neoplásicas. c expresión de CD44 v9 en células con diferenciación escamosa. e expresión en citoplasma de CD44 v6 en células neoplásicas con patrón papilar.

FIGURA 6



Las diferentes características del microambiente en corion, lámina propia y muscular propia dan lugar a tipos diferentes de matriz extracelular forme y amorfa, esto podría estimular factores diferentes que regulen el proceso de corte y empalme alternativo de CD44 dando por resultado expresión diversa de isoformas de CD44 en los diferentes estadios de carcinomas de células transicionales de vejiga.

TESIS CON
FALLA DE ...

ANEXO

ESTADIFICACION CANCER DE VEJIGA TNM

Tumor primario

- Tx Tumor primario no se pudo identificar
- T0 No hay evidencia de tumor primario
- TA Carcinoma papilar no invasor
- Tis Carcinoma in situ plano
- T1 Carcinoma con invasión a tejido conectivo subepitelial
- T2 Tumor que invade muscular propia superficial
- T3 T3a: Tumor invade muscular propia profunda
T3b: Tumor invade tejido adiposo perivesical
 - i. Microscópicamente
 - ii. Macroscópicamente.
- T4 T4a: Tumor invade próstata, útero, vagina
T4b: Tumor fijo a pared de pelvis o abdomen.

Ganglios linfáticos regionales

- Nx Ganglios linfáticos regionales no pueden ser evaluados
- N0 No hay metástasis
- N1 Metástasis en un ganglio linfático de 2 cm o menos
- N2 Metástasis en un ganglio linfático, mayor de 2 cm, menor de 5 cm, o múltiples ganglios
Con metástasis, ninguno mayor de 5 cm.
- N3 Metástasis en un ganglio linfático de más de 5 cm de eje mayor.

Metástasis a distancia

- Mx Metástasis a distancia no se puede determinar
- M0 No hay metástasis a distancia
- M1 Si hay metástasis a distancia

ESTADIOS

0A	TA	N0	M0
0is	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
	T3a	N0	M0
III	T3b	N0	M0
	T4a	N0	M0
IV	T4b	N0	M0
	T	N1-3	M0
	T	N	M1

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN