



GACETA MEXICANA DE ONCOLOGÍA

Publicación Oficial de la Sociedad Mexicana de Oncología

Editor en Jefe

Dr. Francisco Javier Ochoa Carrillo

Coeditora

Dra. Guadalupe Cervantes Sánchez

Coeditor

Dr. Adolfo Fuentes Alburo

Mesa directiva 2010 - 2011

Dr. Rogelio Martínez Macías

Presidente

Dr. Jorge Martínez Cedillo

Vicepresidente

Dr. Gregorio Quintero Beuló

Secretario

Dra. Sandra Sánchez Félix

Tesorera

Vocales

Dra. Aída Mota García

Dra. Laura Torrecillas Torres

Dra. Michelle Villavicencio Queijeiro

Coordinador de capítulos

Dr. Rafael Medrano Guzmán

Consejeros

Dr. Pedro M. Escudero de los Ríos

Dr. Rolando Ocampo Le Royal

Asistentes editoriales

Yessica Pérez Montes de Oca

Guadalupe Palacios Viveros

Sociedad Mexicana de Oncología, A.C.

Tuxpan 59 PH, Col. Roma, México,

D.F., C.P. 06760

Tel. 55 74 14 54 /

Fax 55 84 12 73

smeo@prodigy.net.mx

www.smeo.org.mx

Dirigida a: Especialistas en oncología y miembros de la Sociedad Mexicana de Oncología

La SMeO no garantiza, ni directa ni indirectamente, la calidad ni eficacia de ninguno de los productos o servicios descritos en los anuncios u otro material de carácter comercial contenido en este número.



ELSEVIER

Editado por:

Masson Doyma México, S.A.

Av. Insurgentes Sur 1388 Piso 8,

Col. Actipan, C.P. 03230,

Del. Benito Juárez, México D.F.

Tels. 55 24 10 69, 55 24 49 20

Enero - Febrero 2011, Vol. 10, Núm. 1

Editores asociados

DRA. AURA A. ERAZO VALLE SOLÍS

Jefe de División de Padecimientos Neoplásicos y Proliferativos CMN "20 de Noviembre" ISSSTE

DR. PEDRO M. ESCUDERO DE LOS RÍOS

Director del Hospital de Oncología, CMN "Siglo XXI", IMSS

DR. ENRIQUE LOPEZ AGUILAR

Jefe del Servicio de Oncología, Hospital de Pediatría, CMN "Siglo XXI", IMSS

DR. ÉDGAR ROMÁN BASSAURE

Jefe del Servicio de Oncología, Hospital General de México, OD

DRA. AURORA MEDINA SANSÓN

Jefe de la Unidad de Oncología, Hospital Infantil de México "Federico Gómez"

Comité editorial

DRA. MARICRUZ PEREZ AMADOR DEL CUETO

Bioética

DR. JAIME BERUMEN CAMPOS

Biología molecular

DR. HÉCTOR ARIAS CEBALLOS

Cabeza y cuello

DR. DAVID FRANCISCO CANTÚ DE LEÓN

Casos clínicos Hemato-Oncológicos

DR. RAFAEL GUTIÉRREZ VEGA

Casos de Arbitraje Médico

DR. ERICK SANTAMARÍA LINARES

Cirugía reconstructiva y oncológica

DR. PEDRO LUNA PÉREZ

Colon, recto y ano

DR. CARLOS EDUARDO ARANDA FLORES

Colposcopia

DR. ARMANDO FERNÁNDEZ OROZCO

Coordinador Científico

DR. PEDRO M. ESCUDERO DE LOS RÍOS

Coordinador de Consensos

DRA. ARGELIA LARA SOLARES

Cuidados paliativos

DRA. MICHELLE VILLAVICENCIO QUEJEIRO

Editora Boletín

DR. GREGORIO QUINTERO BEULÓ

Editor Revista AIO

DRA. ANGELICA HERNÁNDEZ GUERRERO

Endoscopia

DR. PEDRO RIZO RÍOS

Epidemiología

DRA. DOLORES GALLARDO RINCÓN

Fármaco-economía

DR. JESÚS MIGUEL LÁZARO LEÓN

Fármaco-vigilancia

DRA. SILVIA VIDAL

Genética

DR. GILBERTO SOLORZA LUNA

Ginecología

DR. ANTONIO MAFFUZ AZIZ

Innovación tecnológica

DR. ALEJANDRO BRAVO CUÉLLAR

Inmunología

DR. LUIS MEILLON

Leucemias agudas y crónicas

DR. PEDRO DE JESÚS SOBREVILLA CALVO

Linfomas

DR. HORACIO ASTUDILLO DE LA VEGA

Marcadores moleculares

DRA. YOLANDA VILLASEÑOR NAVARRO

Mastografía

DR. ENRIQUE ESTRADA LOBATO

Medicina Nuclear

DR. LUIS OÑATE OCAÑA

Metodología y estadística

DR. JORGE VELA

Mieloma Múltiple

DRA. VANESA FUCHS

Nutrición

DRA. FLAVIA MORALES VÁSQUEZ

Oncología Médica

DRA. ROCÍO CÁRDENAS CARDOS

Oncología Pediátrica

DR. EMILIO JOSÉ OLAYA GUZMÁN

Página Web

DRA. ISABEL ALVARADO CABRERO

Patología

DRA. ROCÍO CÁRDENAS CARDOS

Jefe de la Unidad de Oncología, Instituto Nacional de Pediatría

DR. ALEJANDRO MOHAR BETANCOURT

Director General del Instituto Nacional de Cancerología

DR. EUCARIO LEÓN RODRÍGUEZ

Coordinador del departamento de Hematología y Oncología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición "Salvador Zubirán"

DR. FRANCISCO MARIO GARCÍA RODRÍGUEZ

Jefe de la Unidad de Oncología, Hospital Juárez de México

DR. JOSÉ ANTONIO OCEGUERA VILLANUEVA

Profesor Titular del Curso de Cirugía Oncológica, Hospital Civil de Guadalajara

DRA. ROSALVA BARRA MARTÍNEZ

Piel y melanoma

DRA. MARÍA ELENA CRUZ RAMOS

Prótesis Maxilofacial

PSIC. ONCOL. HUMBERTO BAUTISTA

RODRÍGUEZ

Psico-Oncología

DRA. GUADALUPE GUERRERO AVENDAÑO

Radiología Intervencionista

DR. HEYNAR DE JESUS PÉREZ VILLANUEVA

Radio-oncología Pediátrica

DR. CUAUHTEMOC DE LA PEÑA HINOJOSA

Radioterapia

DR. JUAN MANUEL GUZMÁN GONZÁLEZ

Rehabilitación

DR. ADOLFO FUENTES ALBURO

Relaciones Públicas

DR. JOSE LUIS CRIALES CORTES

Resonancia Magnética

DR. MARIO CUELLAR HUBBE

Sarcomas y partes blandas y óseas

DR. HÉCTOR GURROLA MACHUCA

Sesiones académicas

DR. OSCAR QUIROZ CASTRO

Tomografía computarizada

DR. JAVIER KELLY GARCÍA

Tórax y mediastino

DR. ADRIAN CRAVIOTO VILLANUEVA

Tubo digestivo alto y hepato-bilio pancreático

DRA. PATRICIA CORTÉS ESTEBAN

Tumores mamarios

DR. RAFAEL MEDRANO GUZMAN

Tumores neuroendocrinos

DR. NARCISO HERNÁNDEZ TORIZ

Tumores urológicos

GACETA MEXICANA DE ONCOLOGÍA

Contents

Editorial

- Pediatric oncology at the Hospital of Pediatrics, Centro Medico Nacional Siglo XXI, 30 years of existence **1**
Enrique López-Aguilar, *et al.*

Introduction

- Translational medicine in pediatric brain tumors **3**
Enrique López-Aguilar

Original articles

- Bcl-2 over expression as prognosis factor in children with astrocytoma **6**
Enrique López-Aguilar, *et al.*
- CD133 is associated with prognosis in pediatric astrocytoma **13**
Enrique López-Aguilar, *et al.*
- p53 overexpression prognostic factor in children with astrocytoma **19**
Enrique López-Aguilar, *et al.*
- Overexpression of AKT as prognostic factors in medulloblastoma pediatric patients **26**
Enrique López-Aguilar, *et al.*
- Apoptosis correlation with treatment response and survival in pediatric astrocytomas **32**
Enrique López-Aguilar, *et al.*

Contenido

Editorial

- La oncología pediátrica en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, a 30 años de existencia **1**
Enrique López-Aguilar, *et al.*

Introducción

- La medicina traslacional en los tumores cerebrales pediátricos **3**
Enrique López-Aguilar

Artículo original

- Sobreexpresión Bcl-2 como factor pronóstico en niños con astrocitomas **6**
Enrique López-Aguilar, *et al.*
- CD133 se asocia con el pronóstico en astrocitoma pediátrico **13**
Enrique López-Aguilar, *et al.*
- Sobreexpresión de p53 como factor pronóstico en niños con astrocitomas **19**
Enrique López-Aguilar, *et al.*
- Sobreexpresión de AKT como factor pronóstico en pacientes pediátricos con meduloblastomas **26**
Enrique López-Aguilar, *et al.*
- Correlación de la expresión de la apoptosis, con la respuesta a tratamiento y sobrevida en niños con astrocitoma **32**
Enrique López-Aguilar, *et al.*

Contents

Review article

Pediatric brain tumors. Current status of diagnosis and treatment 41

Enrique López-Aguilar, *et al.*

Molecular markers in the therapeutic strategies in children with astrocytoma 46

Enrique López-Aguilar, *et al.*

Clinical case

Clinical, molecular and biological behavior in a child with ependymoma 51

Enrique López-Aguilar, *et al.*

Ifosfamide neurotoxicity. Case report and literature review 55

Enrique López-Aguilar, *et al.*

Contenido

Artículo de revisión

Tumores cerebrales en pediatría. Estado actual del diagnóstico y tratamiento 41

Enrique López-Aguilar, *et al.*

La importancia de los marcadores moleculares en el planteamiento terapéutico del niño con tumor cerebral 46

Enrique López-Aguilar, *et al.*

Caso clínico

Integración clínica, biológica y molecular en un niño con ependimoma. Informe de un caso 51

Enrique López-Aguilar, *et al.*

Neurotoxicidad por ifosfamida. Informe de un caso y revisión de bibliografía 55

Enrique López-Aguilar, *et al.*

La oncología pediátrica en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, a 30 años de existencia

Pediatric oncology at the Hospital of Pediatrics, Centro Medico Nacional Siglo XXI, 30 years of existence

Enrique López-Aguilar,¹ Francisco Javier Ochoa-Carrillo²

El presente volumen es el primero que la Sociedad Mexicana de Oncología nos otorga para poder exponer todo el trabajo que el equipo de Oncología ha estado realizando en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

Se ha seleccionado el tema de Tumores del Sistema Nervioso Central, debido a que es el tipo de tumor sólido más frecuente en la edad pediátrica, y en el que sin embargo, menos avances se habían realizado hasta la década de los ochentas, presentando la tasa de mortalidad más elevada para todos los tipos de cáncer: 40%. No obstante, los avances en las últimas dos décadas han sido vertiginosos en este rubro, y exponerlos, es a lo que nos vamos a dedicar a lo largo de todo el volumen.

No podemos iniciar sin reconocer el esfuerzo que muchos médicos pediatras del IMSS han realizado desde que el antiguo Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional fue fundado en marzo de 1963 y desde que el primer médico oncólogo con formación en quimioterapia inició, en 1976, lo que ahora se conoce como el Servicio de Oncología del Hospital de Pediatría, mismo que se instaló el 27 de abril de 1992 en el nuevo Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Posteriormente, se inició el tratamiento de los pacientes con tumor cerebral bajo protocolos de manejo establecidos por instituciones de oncología vanguardistas en el mundo; sin embargo, hacia finales de los ochentas, la sobrevivencia de estos pacientes continuaba siendo muy pobre y los pacientes que lograban sobrevivir, presentaban secuelas neurológicas muy importantes.

Se iniciaron nuevas estrategias terapéuticas en el Hospital de Pediatría, mismas que actualmente, son modelos a seguir por diversos hospitales nacionales e internacionales, quienes han logrado reproducir nuestros resultados. Consideramos que el primer gran paso fue el inicio de la Quimioterapia Neoadyuvante en estos pacientes, esto es, administrar un esquema de quimioterapia agresivo antes de que el paciente iniciara manejo de Radioterapia, con lo cual lográbamos básicamente dos objetivos: disminuir el volumen tumoral a irradiar, incrementando las isodosis al interior del tumor y por otro lado, aumentar la radiosensibilidad del mismo al exponerlo previamente a agentes derivados del platino que incrementaban la respuesta a la Radioterapia. De hecho, no fueron pocos los pacientes que posterior a cuatro cursos de quimioterapia neoadyuvante, presentaban respuesta completa tumoral.

Con lo anterior, se logró incrementar la sobrevivencia de los pacientes con meduloblastoma de 20% hasta 76% a cinco años y la de los astrocitomas de alto grado, de 17% a 65% a cinco años. No obstante, ya adentrados en el Siglo XXI, se constató que aunque los logros habían sido satisfactorios, una cuarta parte de los pacientes con meduloblastoma continuaban falleciendo y un tercio de los portadores de astrocitoma; por ende, era imperativo continuar los esfuerzos para apoyar a estos casos.

El segundo gran paso fue el de redefinir el riesgo de los pacientes con tumor cerebral y con ello, estratificar a los niños que tenían más factores de mal pronóstico para proporcionarles tratamientos más agresivos y con diferentes blancos terapéuticos, integrando a este esfuerzo conocimientos de inmunohistoquímica y un mayor entendimiento del comportamiento biológico de estos

tumores mediante técnicas de cultivo celular tumoral y el estudio de la apoptosis tanto por inmunohistoquímica como por microarreglos.

En éste contexto, se presentan varios trabajos en los cuales se integra el estudio de algunos de éstos marcadores moleculares involucrados en la apoptosis y en la proliferación celular y cómo es que influyen en el comportamiento tumoral y pronóstico de éstos pacientes. Es fundamental comprender que la proliferación celular está controlada por señales extracelulares y por regulación intrínseca del ciclo celular. La apoptosis es un mecanismo fisiológico de eliminación de células al final de su vida o bien de aquellas con daño genético, y en éste sentido, una desregulación en el equilibrio da como resultado un crecimiento incontrolado.

Considerado como el “guardián del genoma”, se investigó el rol del oncogén p53 en un grupo de niños mexicanos portadores de astrocitoma asociándolo a la variedad histológica y a la sobrevida, toda vez que algunos autores lo habían asociado como factor de mal pronóstico e involucrado en la génesis de los astrocitomas. Igualmente se estableció un protocolo para conocer el rol del Bcl-2 como factor pronóstico dado que este oncogén se ha encontrado íntimamente ligado a la apoptosis, y en donde su sobreexpresión o alteración, impide la liberación del citocromo C de la mitocondria cuando existe daño celular contribuyendo con esto a la inmortalización de las células y mayor agresividad e intentamos igualmente asociarlo a histologías más agresivas y a la sobrevida de éste grupo de pacientes.^{1,2}

El papel del antígeno de superficie CD133, también fue abordado, dado que éste es de gran interés por su asociación con la angiogénesis y por estar íntimamente ligado a las *stem cell*, células capaces de autorenovación, responsables del inicio de las neuroesferas, pudiendo ser capaces de reproducir el tumor al ser inoculadas en modelos murinos y de cómo este antígeno se relaciona con la histología y evolución clínica de los niños con astrocitoma.

En pacientes con meduloblastoma, se estudió el AKT y su influencia en la evolución de estos niños, dado que se ha informado que este gen está asociado de manera directa a la proliferación y supervivencia celular, y su activación está implicada con el grado de malignidad y una mala evolución clínica.³

Se presenta la integración en un trabajo de un grupo de niños con astrocitomas asociando tanto las alteraciones de las vías intrínseca como extrínseca de la apoptosis por medio de microarreglos, con la histología, presentación clínica y sobrevida, pudiéndose identificar la alteración en la vía de las caspasas como la más frecuente.

Para concluir, en este número se presentan dos casos clínicos, el primero se refiere a un caso de neurotoxicidad al esquema de Quimioterapia habitual para tratar a éstos pacientes y el segundo, resulta de suma importancia, dado que dicta las pautas de la investigación clínica y básica de vanguardia, siendo el más claro ejemplo de la medicina traslacional aplicada a la oncología, donde a partir del cultivo de células tumorales de un paciente con ependimoma, se puede apreciar el desarrollo de neuroesferas, cómo la formación de éstas se asocia en forma directa a la evolución clínica de éste paciente, integrando igualmente todo el panel de marcadores biomoleculares asociados a la apoptosis, proliferación celular y como un caso como éste, puede ser discordante con los hallazgos histopatológicos.⁴

Ante lo ya expuesto, es trascendental conocer que cada paciente con un tumor cerebral, tiene un comportamiento diferente, por lo que es imperativo el intentar individualizar tratamientos y de esta forma poder brindar una estrategia terapéutica específica a cada paciente, de acuerdo al comportamiento biológico del tumor que presenta; si lo que queremos es mejorar la sobrevida y calidad de vida de nuestros niños al ajustar estrategias terapéuticas de una manera más adecuada, razonando el empleo de nuevas drogas como los antiangiogénicos y más recientemente, las que actúan bloqueando los receptores de Factor de Crecimiento Epidermoide (EGFR) complementando los manejos de quimioterapia que han dado buenos resultados.

REFERENCIAS

1. Vogelstein B, Kinzler KW. p53 function and dysfunction. *Cell* 1992;70:523-526.
2. Stegh AH, Chin L, Louis DN. What drives intense apoptosis resistance and propensity for necrosis in Glioblastoma? A role for Bcl-2 as a multifunctional cell death regulator. *Cell Cycle* 2008;15:7:2833-9.
3. Vivanco I, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2002;2:489-501.
4. Agarwal B, Calaminus G, Henz M. In Education Book 2008. 40th Congress of the International Society of Paediatric Oncology. Berlin, Germany. October 2-6 2008.

¹Editor huésped de la Gaceta Mexicana de Oncología Jefe de Servicio Oncología, Laboratorio de Investigación en Tumores Cerebrales
UMA Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

²Instituto Nacional de Cancerología, SSA.

Correspondencia: Dr. Enrique López Aguilar. Av. Cuauhtémoc N° 330. Colonia Doctores. 06720. Teléfono: 5627 6900, extensión 22528. Correo electrónico: elopezaguilar@hotmail.com

La medicina traslacional en los tumores cerebrales pediátricos

Translational medicine in pediatric brain tumors

Enrique López-Aguilar

▷ INTRODUCCIÓN

Mucho se ha hablado en los primeros años de éste siglo sobre la *medicina traslacional* en el mundo entero. Esta es una necesidad más que una moda y no es más que el punto de convergencia entre la investigación clínica avanzada y la investigación básica avanzada, utilizadas ambas, para el mayor conocimiento de una enfermedad y una mejor planeación terapéutica en beneficio del paciente ya que esto nos permitirá razonar de una manera sistematizada el tratamiento, en éste caso, para un niño con un tumor cerebral.

En los últimos 20 años, podemos decir que gracias a la investigación exclusivamente clínica en éstos pacientes, hemos podido incrementar la sobrevida de los niños con un astrocitoma de alto grado de 17% a 65% hasta cinco años; en los niños con meduloblastomas, de 20% a 78% en el mismo periodo y de los pacientes portadores de un ependimoma, de 20% a 54%. Son éstos, los tres tipos de tumores cerebrales mas frecuentes en la edad pediátrica y en los que más debemos trabajar.¹

Todavía en la década pasada, definíamos el riesgo en los pacientes pediátricos con un tumor cerebral, y con

ello el tratamiento que debían recibir, de acuerdo a tres parámetros:

- Parámetros clínicos. De acuerdo a la extensión de la enfermedad y si existía diseminación de ésta al neuroeje (Clasificación de Chang, Allen, etc.)
- Parámetros histológicos. De acuerdo al grado de malignidad (utilizando en ocasiones clasificaciones tan antiguas como la de Kernohan de la década de los cuarentas), si existía anaplasia o no o necrosis, mitosis u otros factores histológicos de malignidad.²
- Parámetros radiológicos. Que con el advenimiento de la imagen de Resonancia Magnética de cráneo y neuroeje, nos podían y pueden definir con detalle el sitio de la tumoración y estructuras que involucra.

Sin embargo, desde principios de este siglo, se han agregado tres parámetros más, fundamentales para poder comprender la biología molecular de éstos tumores y poder ofrecer el tratamiento más adecuado, el cual en términos finales, debiera ser individualizado para cada paciente:

- Parámetros inmunohistoquímicos. Que nos permiten definir los antígenos de superficie presentes en éstos tumores y que marcan una diferencia en el comportamiento biológico como es el caso de la expresión del CD-133, relacionado con las células troncales y con alta capacidad de angiogénesis; el Ki67 y el AKT que se asocian con tumores con un alto índice de proliferación celular, el bcl-2 y la determinación de p53, que son genes involucrados en la apoptosis o inmortalización de las células tumorales y cuya alteración les confiere mayor resistencia a drogas y una menor tasa de supervivencia, y el EGFR o factor de crecimiento epidermoide que se ha postulado se relaciona con tumores mas agresivos y que sin embargo, pudieran responder a algunos agentes antiangiogénicos.^{3,4}
- Parámetros genéticos y epigenéticos: La genética aplicada a la oncología ha dado luz a maravillosos hallazgos como lo son, en el caso de los tumores cerebrales, la asociación de la codeleción 1p/19q con un subgrupo de pacientes portadores de oligodendrogliomas y de astrocitomas con una buena respuesta a quimioterapia y una mayor radiosensibilidad. Y por otro lado el descubrimiento epigenético del involucro de la metilación celular como factor pronóstico y de respuesta a algunas drogas como la temozolomida, que nos explica por qué algunos pacientes responden mejor a ésta droga que otros, y en cuáles un incremento en la dosis de éste agente alquilante de segunda generación puede ser de utilidad y con esto permitiéndonos eficientar costos definiéndonos con claridad en qué grupo de pacientes se debe y a qué dosis dar éste medicamento y en quienes no.
- Parámetros biológicos. El conocimiento del comportamiento biológico de los tumores cerebrales es, en sí, toda una materia a estudiar que ha permitido dar un giro total al entendimiento de éstos.

En el Laboratorio de Investigación en Tumores Cerebrales con el cual contamos en el Servicio de Oncología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, hemos tenido la oportunidad de cultivar las células tumorales cerebrales y poder estudiar *in vitro* el comportamiento biológico de estos tumores, en condiciones semejantes a las que tienen en el cerebro del paciente, y esto nos ha permitido estudiar a fondo cómo se comportan estas células. En estos cultivos, estas células tumorales cerebrales pueden ser

susceptibles de crecimiento desde una sola célula derivada de células de colonias que predominantemente expresan marcadores de precursores neurales como la nestina y el marcador de superficie celular CD-133. A partir de estas células, hemos visto como se desarrollan neuroesferas tumorales las cuales a su vez expresan marcadores de superficie de linaje más maduro; así pues, estos tumores cerebrales crecen como neuroesferas, las cuales contienen una combinación de células troncales o *stem cells*, y un mayor número de células inmaduras progenitoras y otras células mas diferenciadas. La nestina y el marcador de superficie CD-133 son expresadas en ambas: tanto en las células progenitoras como en las *stem cells*; sin embargo, estas neuroesferas son más relacionadas con estas últimas, las cuales tienen una alta capacidad de “renovación celular” y una alta capacidad proliferativa.⁵

Así pues, la identificación y estudio de estas neuroesferas, nos permiten ahora poder conocer a las células iniciadoras del cáncer, cuyo conocimiento ha coadyuvado sin duda a un mejor entendimiento del comportamiento biológico de éstos tumores; y ya en la actualidad, algunos autores como Panosyan y colaboradores, de la Universidad de California, han intentado correlacionar la sobrevida de los pacientes con tumores gliales, con la formación de neuroesferas y la persistencia de éstas después de al menos tres “pases” o resiembras de estas neuroesferas en cultivos renovados, que es lo que actualmente se está tratando de identificar de manera simultánea en nuestro país, y más aún, poderlas correlacionar con la histología y respuesta inicial a tratamiento.

Lo anteriormente mencionado es una muestra de cómo el conocimiento y el avance de la investigación básica, puede entremezclarse con el conocimiento y el avance de la investigación clínica, a la par ambas, de los nuevos conocimientos farmacológicos de diferentes drogas, y cómo y cuándo éstas deben integrarse a los diferentes esquemas de tratamiento y estrategias terapéuticas.

Igualmente importante es –y debe mencionarse– que se requiere de un completo conocimiento de la patogénesis de los tumores cerebrales, así como de las diversas vías de malignización, las cuales involucran anormalidades tanto en la función celular, dictadas por cambios en la estructura génica, como en sus mecanismos de control, y que el fenotipo de éstos tumores es complejo y resultan de una mala regulación de las numerosas vías intracelulares. La identificación de moléculas alteradas relacionadas a éstas vías, nos permitirá a futuro el desarrollo de blancos dirigidos que incluyen pequeñas moléculas inhibitorias (nanoterapia).

REFERENCIAS

1. López-Aguilar E, Sepúlveda VAC, Cerecedo DF, Rivera MH. Preirradiation Ifosfamide, carboplatin and etoposide (ICE) for the treatment of high grade astrocytomas in Mexican children. *Childs Nerv Syst* 2003;19:818-23.
2. Kleihues P, Sobin LH. World Health Organization Classification of tumor. *Cancer* 2000;88:2887.
3. Kieran MW, Chi SN. Pediatric Brain Tumors-In. Orkin SH, Fisher DE, Look T editors. *Oncology of infancy and childhood*. Philadelphia. Elsevier, 2009; pp:623-81.
4. Lasky JL, Choe M. Cancer stem cells in pediatric brain tumors. *Curr Stem Cell Res Ther* 2009;4:298-305.
5. Bao S, Wu. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 2006;444:756-60.

Sobreexpresión Bcl-2 como factor pronóstico en niños con astrocitomas

Bcl-2 over expression as prognosis factor in children with astrocytoma

Enrique López-Aguilar,¹ Ana Paulina Rioscovian-Soto,¹ Ana Carolina Sepúlveda-Vildósola,² Georgina Siordia,³ Leticia Figueroa-Rosas,³ Hermilo De La Cruz-Yáñez⁴

▷ RESUMEN

Introducción: La sobrevida de los pacientes con astrocitoma, es de menos de 60% a cinco años. La identificación de otros factores asociados al pronóstico permitirá adecuar el tratamiento de estos pacientes. Bcl-2 es una proteína involucrada en la inhibición de la apoptosis y la sobreexpresión de la misma se ha observado en diferentes tumores, en los del sistema nervioso central, se ha relacionado con histologías desfavorables y con quimio y radio resistencia; sin embargo, estos estudios se han realizado únicamente en adultos.

Objetivo: Identificar si la sobreexpresión de Bcl-2 es un factor pronóstico para la sobrevida y la respuesta tumoral en pacientes pediátricos.

Métodos: Cohorte analítica. Se revisaron expedientes de 1995 a 2009 de pacientes en quienes se diagnosticó astrocitoma y se realizó inmunohistoquímica para determinación de sobreexpresión de Bcl-2. Se realizaron curvas de sobrevida global, con y sin expresión de Bcl-2 a uno y cinco años por método de Kaplan y Meier y se determinó mediante Log Rank Test si existió significancia estadística.

Resultados: Se estudiaron 38 pacientes, trece de los cuales (34.2%) sobre expresaron Bcl-2 y 25 (65.7%) no lo expresaron. La sobreexpresión del oncogén Bcl-2 en aquellos con Bcl-2 positivo, tuvieron una sobrevida de 29% mientras que en los pacientes que no lo sobreexpresaron, la sobrevida fue de 64%, $p = 0.97$.

▷ ABSTRACT

Introduction: Survival in children with astrocytomas is poor, fewer than 60% at five years. The identifications of molecular parameters could help us to better treatments. Bcl-2 inhibits the apoptosis and the sobre expression has been associated a poor prognosis.

Objective: To identificate the Bcl-2 association with survival and histological grade in pediatric patients with astrocytomas.

Methods: Between 1995 and 2009 all the patients with disgnosis of astrocytomas were includen. Inmunochemistry was realized to determinate Bcl-2 over expression. Kaplan-Meier and Log Rank test were calculated.

Results: 38 patients were included; 13 (34.2%) over expressed Bcl-2 with five years survival of 29% compared with 64% at 5 years in .the group of patients which not sobreexpresed Bcl-2 gen

Discussion: The Bcl-2 over expression in children with astrocytomas could be important in the treatment strategy and we think must be considered as a prognostic factor.

Keywords: Bcl-2, astrocytomas, Mexico.

1Departamento de Oncología pediátrica. Laboratorio de Investigación en Tumores Cerebrales

2Dirección de Educación e Investigación

3Departamento de Anatomía Patológica

4Dirección General

UMAE Hospital de Pediatría, CMN SXXI, IMSS.

Correspondencia: Dr. Enrique López Aguilar. Av. Cuauhtémoc N° 330, Colonia Doctores. Del. Cuauhtémoc. 01620, México, D. F. Teléfono: 6276 9900 extensión 22500. Correo electrónico: elopezaguilar@hotmail.com

Discusión: La sobreexpresión de Bcl-2, aunado a la biopositividad de otros marcadores, nos puede determinar el empleo de un esquema de quimioterapia más intensivo con respecto de los pacientes con tumores que sean negativos a estos marcadores.

Palabras clave: Bcl-2, astrocitomas, México.

► INTRODUCCIÓN

Los tumores cerebrales representan el tipo de tumor sólido más frecuente en la edad pediátrica. A nivel mundial, la incidencia se encuentra entre 10 y 18 casos por millón por año, con una frecuencia de presentación de 12%.¹ Los más frecuentes son los que se derivan de la glia hasta en 60% y de éstos los astrocitomas.² La expectativa de vida de acuerdo a la SEER (*Surveillance Epidemiology End Result*) a los cinco años, es de 50%.³⁻⁷

El conocimiento de los factores pronósticos, permite adecuar el tratamiento a estos pacientes. A pesar de que se conocen algunos factores pronósticos, continúa habiendo un grupo de pacientes con evolución desfavorable, por lo que es importante determinar los factores que llevan a un peor pronóstico y de esta manera diferenciarlos y tratarlos de una manera más intensiva.

Los factores de mal pronóstico ya conocidos son: edad menor de tres años, ya que a estos pacientes no se les puede ofrecer radioterapia, así como localización e histología.⁵ Los indicadores histológicos de anaplasia, y por lo tanto de malignidad, son: atipia nuclear, número de mitosis, proliferación vascular y presencia de necrosis.⁶ La supervivencia media de los pacientes con astrocitomas, según la clasificación de la OMS, es de cinco a siete años para los de grado I, de 2.5 a tres años para el grado II, de 1.5 a dos años para el grado III, y de un año o menos para el grado IV.⁷ Con la introducción de la quimioterapia neoadyuvante, la supervivencia se ha visto incrementada, en particular con el esquema de quimioterapia utilizando tres drogas (ifosfamida, carboplatino y etopósido).⁸

Se han identificado también diversos marcadores biomoleculares que influyen en el pronóstico de estos pacientes. Entre ellos los factores de crecimiento celular que son proteínas que en condiciones fisiológicas regulan el crecimiento y la diferenciación celular.

La sobreexpresión de éstos, se asocia por lo general a una mayor agresividad biológica y su identificación ha permitido el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.⁹

Otro campo de estudio, respecto al pronóstico de pacientes con tumores cerebrales, corresponde al estudio de alteraciones en la apoptosis o muerte celular programada. Los mecanismos que regulan la muerte celular son esenciales para el normal desarrollo y mantenimiento de la homeostasia en los tejidos.¹⁰ Las células crecen controladamente gracias a la expresión de genes que inducen señales de muerte en estadios definidos de diferenciación y en respuesta a estímulos fisiológicos determinados.¹¹

Debido a que la apoptosis puede considerarse como un proceso de eliminación de células defectuosas, la desregulación de los genes que codifican las proteínas relacionadas con la apoptosis puede ser la causa del desarrollo de diversos tumores.¹²

El Bcl2 (*B cell leukemia/lymphoma 2 gen*) fue el primer proto oncogén detectado; está localizado en el cromosoma 18, funciona como un supresor de la apoptosis y puede promover la transformación neoplásica.¹³ Forma parte de una familia de genes que intervienen en la regulación de la supervivencia de la célula. Los miembros de la familia Bcl-2 están integrados por: Bcl-2, Bax, Bad, Bcl-X1, Bcl-Xs, Mcl-1.¹⁴ El destino de una célula de morir o sobrevivir está determinado por las diferencias en la expresión de estas proteínas, actuando algunas como promotoras y otras como inhibidoras de las señales de apoptosis.¹⁵

Las alteraciones en este gen pueden provocar un aumento en la expresión de la proteína citoplasmática Bcl-2, que origina inhibición de la apoptosis y da por resultado la supervivencia de la célula transformada.¹⁶ Esta proteína, facilita el aumento de la supervivencia de la célula transformada y de este modo aumenta la posibilidad de futuras aberraciones genéticas, que pueden conducir a la progresión maligna.^{17,18}

La expresión de este gen o de su proteína en algunos tipos de cáncer es un marcador de mal pronóstico.¹⁹ En 2002, Tyagi en la India, realizó un estudio en el cual comparó la expresión de Bcl2 en pacientes con tumores primarios del SNC, encontrando mayor expresión de esta proteína comparada con pacientes sanos.²⁰

Streggh, en 2008, demostró que la alteración en Bcl2 se correlacionaba con resistencia a quimioterapia y por lo tanto con mal pronóstico, en pacientes adultos con glioblastoma multiforme.²¹ Liu, en 2007, realizó marcadores tumorales con técnica de inmunohistoquímica, entre ellos Ki67, p53 y Bcl2, en pacientes adultos con diagnóstico de astrocitoma de alto grado, encontrando que la expresión de estos marcadores es importante para carcinogénesis.²²

▷ OBJETIVO

Identificar si la sobreexpresión de Bcl2 es un factor pronóstico para la sobrevida en pacientes pediátricos.

▷ MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI, analizando los expedientes de pacientes diagnosticados con astrocitoma durante el periodo comprendido entre 1995 a 2009. El protocolo fue aprobado por el Comité Local de Investigación. Se incluyó a todos los pacientes menores de 15 años con diagnóstico de astrocitoma establecido en el servicio de Patología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, que contaban con expedientes completos, así como muestra del tumor en bloque de parafina o muestra de tejido tumoral ultracongelada y que completaran un seguimiento de por lo menos dos años. Todos los pacientes recibieron tratamiento por el servicio de Oncología del Hospital, con el protocolo ICE (carboplatino: 400 mg/m²/día en día un, seguido de ifosfamida: dos g/m²/día los días uno, dos, tres, y etoposido: 100/mg/m²/día los días uno, dos, tres, cada tres días por cuatro cursos), seguido de radioterapia (5400 cGy). Se eliminaron a todos aquellos pacientes que abandonaron el tratamiento, o cuyas muestras no pudieron ser procesadas por muestra insuficiente. Se tomaron de los expedientes los siguientes datos: edad al diagnóstico, sexo, diagnóstico histopatológico, localización de la tumoración, tipo de cirugía, así como volumen tumoral residual, fecha de diagnóstico y fecha de defunción o última cita. Las muestras de parafina fueron procesadas por inmunohistoquímica y se tomó positivo cuando la inmunoreactividad fuera mayor a 50% de células positivas en un campo de 40 aumentos.

El análisis estadístico se realizó con medidas de tendencia central y dispersión, de acuerdo a la distribución de las variables. Se analizó la asociación de cada variable con la probabilidad de morir mediante prueba de *Ji cuadrada*, o prueba exacta de Fisher, y cálculo de riesgo mediante razón de momios. Se calculó la sobrevida global y libre de enfermedad a uno, cinco y 10 años de acuerdo al método Kaplan Meier, con prueba log Rank test para determinar diferencias entre grupos.

▷ RESULTADOS

Se estudiaron 47 pacientes, de los que se excluyeron siete, por no contar con los datos necesarios en el expediente y dos en los que la muestra de tejido no fue suficiente para realizar la técnica de inmunohistoquímica, por lo que se presentan los resultados de 38 pacientes. La mediana de edad en los pacientes estudiados, fue de cinco años, con un rango de tres a 16 años. La razón hombre mujer fue de 0.9:1 (18 hombres: 20 mujeres).

En cuanto a la histología, 29 pacientes (76.3%), correspondieron a astrocitomas de bajo grado; 12 (31.5%) astrocitoma fibrilar y 17 (44.7%) a astrocitoma difuso, y nueve astrocitomas de alto grado; siete (18.4%) fueron astrocitomas anaplásicos y dos (5%) glioblastomas multiformes.

Por localización: 14 (36%) fueron supratentoriales, 15 (39.4%) infratentoriales y nueve (23.6%) en el tallo cerebral.

De acuerdo al tipo de cirugía realizada, a seis pacientes (15%) se les realizó biopsia, a 22 (57.8%) resección parcial y a 10 (26.31%) resección total.

Respecto del estado actual: 23 pacientes están vivos (60.5%) y 15 pacientes (39.5%) han fallecido; de acuerdo con la histología, de los 29 pacientes con astrocitoma de bajo grado 20 (68.9%) están vivos y nueve (31.1%) muertos. De los nueve pacientes con astrocitoma de alto grado aquellos con astrocitoma anaplásico tres (33%) están vivos y cuatro (44.4%) muertos; los dos pacientes restantes con glioblastoma multiforme fallecieron. Por localización, de los 14 pacientes con astrocitoma supratentorial siete han fallecido y siete están vivos (50%). Once de 15 pacientes (73.3%) están vivos y cuatro (26.7%) han fallecido. De los pacientes con tumor en tallo cerebral, cinco están vivos y cuatro han fallecido, 55% y 45% respectivamente.

Trece pacientes (34.2%) sobre expresaron Bcl2 y 25 (65.7%) no lo expresaron.

De acuerdo a la histología nueve de los 29 (31%) pacientes con histología de bajo grado sobre expresaron el oncogén Bcl2 mientras que cuatro de los nueve pacientes (44.4%) con astrocitoma de alto grado lo expresaron.

Por localización Bcl2 se sobre expresó en tres de 12 (25%) pacientes con astrocitoma fibrilar sobre expresaron Bcl2, seis de 11 (54%) pacientes con astrocitoma difuso, tres de cuatro (75%) con astrocitoma anaplásico y un (50%) paciente con glioblastoma multiforme (**Tabla 1**). Por el tipo de cirugía realizada, de los pacientes a los que se realizó biopsia, seis no sobre expresaron Bcl2, 12 de los 22 (54.5%) a los que se realizó resección parcial si lo sobre expresaron y uno de nueve (11.1%) a los que se realizó resección total también lo sobreexpresó.

Respecto de la edad cuatro de cinco (80%) pacientes menores de tres años sobre expresaron esta proteína y nueve de 20 (45%) pacientes mayores de tres años la sobre expresaron.

La sobrevida global de acuerdo al método de Kaplan Meier fue de 56% a cinco años (**Figura 1**). La sobrevida global a cinco años, de acuerdo al género, fue de 51% para sexo femenino y 60% para masculino ($p = 0.87$).

Por histología, la sobrevida a cinco años fue de 44% para los pacientes con astrocitoma fibrilar, de 76% para los pacientes con astrocitoma difuso, 42% para astrocitoma anaplásico y 0% para glioblastoma multiforme ($p = 0.511$). Por bajo y alto grado la sobrevida a cinco años fue de 60% y 33.3% respectivamente $p = 0.483$ (**Figura 2**).

Respecto de la localización, la sobrevida global a cinco años fue de 46% para los supratentoriales, 73% para infratentoriales y 35% para tallo cerebral $p = 0.546\%$.

De acuerdo al tipo de cirugía, la sobrevida a cinco años, fue de 16% en los pacientes a quienes se realizó biopsia,

Tabla 1.

Características de los pacientes con diagnóstico de astrocitoma.

		N (%)
Edad	Mediana	6
	Rango	1-16
Sexo	Femenino	20
	Masculino	18
Localización	Supratentoriales	14 (36.5%)
	Infratentoriales	15 (39.4%)
	Tallo cerebral	9 (23.6%)
Tipo de cirugía	Biopsia	6 (15%)
	Resección parcial	22 (57.8%)
	Resección total	10 (26.31%)
Histología	Bajo grado	29 (76.3%)
	AF	12 (41.3%)
	AD	17 (58.7%)
	Alto grado	9 (23.6%)
	AA	7 (77.7%)
	GM	2 (22.2%)
Sobre expresión Bcl2	Positiva	13 (34.2%)
	Negativa	25 (65.7)

AF astrocitoma fibrilar AD astrocitoma difuso AA astrocitoma anaplásico GM glioblastoma multiforme

72% en los que se realizó resección parcial y 60% para los que se realizó resección total; $p = 0.0036$ (**Figura 3**).

Los pacientes que sobre expresaron Bcl-2 tuvieron una sobrevida de 29% mientras que los pacientes que no lo sobre expresaron la sobrevida fue de 64%; $p = 0.97$ (**Figura 4**).

Figura 1.

Curva de sobrevida global.

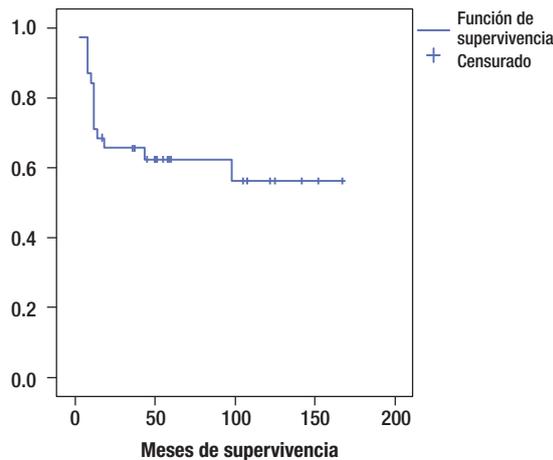


Figura 2.

Curva de sobrevida de acuerdo al grado histológico.

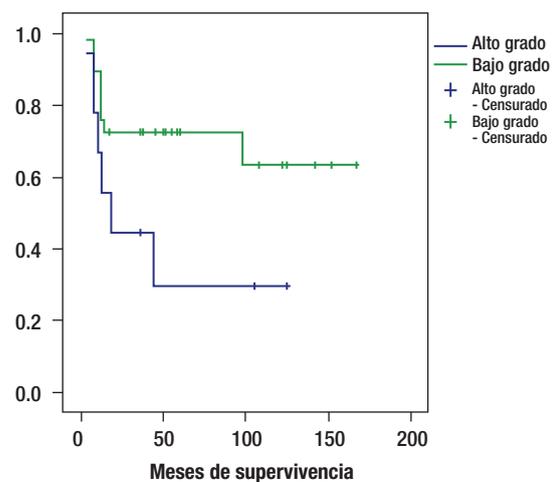


Figura 3.

Curva de supervivencia de acuerdo al tipo de cirugía.

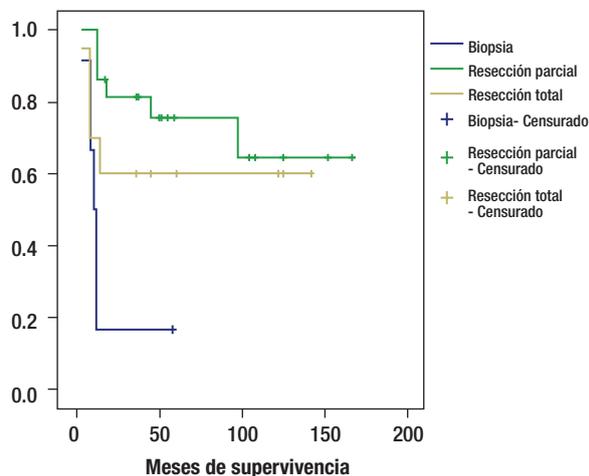
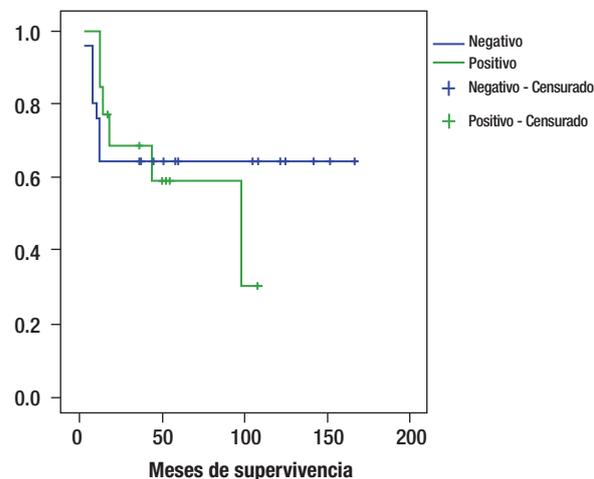


Figura 4.

Curva de supervivencia de acuerdo a la expresión de Bcl2.



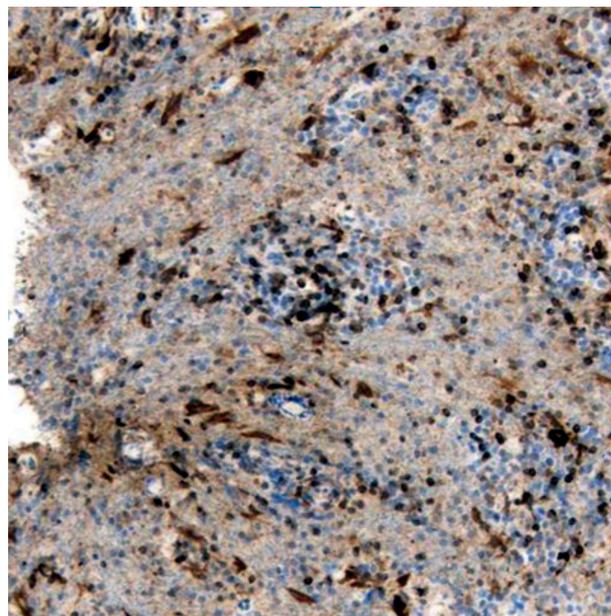
► DISCUSIÓN

La supervivencia de los pacientes con diagnóstico de tumores cerebrales, específicamente con astrocitoma, es reportada en la mayoría de los estudios internacionales de 30% a 40% a cinco años (**Figura 5**). Ésta ha mejorado en los últimos 15 años, debido al empleo de esquemas de quimioterapia más intensivos, que incluyen fármacos que han probado su efectividad *in vitro* e *in vivo*, tal es el caso del carboplatino, que aunado a la sinergia existente entre la combinación de ifosfamida y VP16 ha probado su efectividad en gran número de estudios. La tendencia actual para estos pacientes es el tratamiento individualizado de acuerdo al riesgo que tengan, tanto de morir como de respuesta a tratamientos, para lo cual es muy importante conocer el comportamiento bio-molecular de estos tumores para poder dirigir de manera más acertada un tratamiento. Como resultado de éste conocimiento, han surgido nuevos fármacos, por ejemplo los antiangiogénicos o aquellos dirigidos contra factores de crecimiento epitelial o del endotelio vascular que se encuentran sobre expresados en estas neoplasias.^{23,24}

Un campo de estudio en constante crecimiento para la explicación de biología molecular en pacientes con tumores cerebrales, es el estudio de la apoptosis o muerte celular programada. En condiciones normales, el desarrollo de un tejido guarda un estrecho equilibrio entre las células proliferantes y las que se van muriendo (vía apoptosis) o bien que se diferencian; al presentar una

Figura 5.

Astrocitoma BCL-2 +.



alteración, ya sea aumento de la proliferación o inhibición de la apoptosis, estas células rompen ésta homeostasis y tienden a inmortalizarse, y si este programa de pérdida celular se altera, las células continúan en proliferación de manera indefinida.²⁵

Bcl2 es una familia, compuesta de 19 genes, que pueden promover o inhibir la apoptosis, dentro de los miembros de esta familia se encuentran BAX que favorece la apoptosis y Bcl2 que la inhibe. Se encuentra localizado en el cromosoma 18. Las proteínas de este gen, ejercen un efecto inhibitor sobre la permeabilización de la membrana mitocondrial, que libera el citocromo C hacia el citoplasma de la célula, el cual a su vez inicia la vía intrínseca de la apoptosis a través de la activación de las caspasas 7. Bcl2 es un proto-oncogén que prolonga la sobrevivencia de las células, al bloquear la apoptosis, y esta inhibición puede promover la transformación neoplásica.

Trabajos recientes, realizados por Stegth, han demostrado que aquellos pacientes que sobreexpresan el Bcl2 previenen la muerte celular inducida por radioterapia.²⁶

Esta molécula a pesar de no ser nueva, dado que desde el 1988 se había visto sobre-expresada en pacientes con LNH, fue hasta fines de los noventas que se le atribuyó un rol en la oncogénesis.

En el presente trabajo, la expresión de este oncogén, se manifestó de manera más frecuente en aquellos pacientes portadores de astrocitoma de alto grado (49%), con respecto de aquellos pacientes portadores de un astrocitoma de bajo en el cual estuvo presente en 30%. A pesar de no existir significancia estadística, si la hay clínica.

Lo anteriormente expuesto se corrobora al hacer una correlación entre la sobreexpresión de oncogén Bcl2 y la sobrevivencia, en la que encontramos sobrevivencia de 64%, a cinco años para pacientes que no expresaban esta oncogén *vs.* 29% que presentaban ($p = 0.76$). Consideramos que existe significancia clínica con un OR para fallecer de 1.5 para los pacientes que sobre expresan Bcl2, es importante considerar también, que el porcentaje de la sobreexpresión dado que aquellos que presentaron más de 25% de sobre expresión presentaron SV de 31% a 10 años *vs.* 66% para aquellos que no lo expresaron.

En este trabajo, resulta importante mencionar que se corrobora lo que en múltiples estudios se ha expuesto; el tipo de cirugía realizada en estos pacientes, lo cual se reflejó en la sobrevivencia, al presentar 64% de supervivencia a cinco años para los pacientes sometidos a resección parcial o total *vs.* 16% de aquellos en quienes se realizó biopsia ($p = 0.003$).

Por histología, se corroboró un peor pronóstico para el grupo de pacientes con glioblastoma multiforme, la cual fue de 0% a cinco años *vs.* 76% y 58% para bajo grado (difuso y fibrilar).

Consideramos que el presente trabajo es de utilidad; no obstante, debemos ser juiciosos al tratar de incorporar

los nuevos biomarcadores moleculares como factores pronóstico, en este tipo de pacientes. Debe conocerse a profundidad el comportamiento biológico de estos tumores para poder dirigir una terapia adecuada al riesgo; sin embargo, continúan existiendo factores pronósticos clínicos y quirúrgicos ya establecidos que siguen vigentes.

El continuar con este trabajo e incrementar la muestra de pacientes será importante para tratar de disminuir el error estadístico, por tamaño de muestra y contribuirá al mejor entendimiento del comportamiento de este tipo de pacientes.

A pesar de que algunos autores como Tyagi mencionan a Bcl2 como factor pronóstico importante, encontrando en su estudio una diferencia estadística, en cuanto a la expresión de este oncogén en el tejido tumoral resecado al compararlo con el parénquima cerebral adyacente.²⁷ Y aunque tampoco se encontró una correlación con el grado histopatológico, si se considera a la sobreexpresión de este oncogén, como un evento molecular importante que hace a estos tumores quimio y radio resistentes. Lo anterior corrobora, y nos ayuda a concluir la importancia de este trabajo, en el cual el entendimiento biomolecular, nos dicta la pauta terapéutica; esto es, la sobreexpresión de BCL2, aunada a la biopositividad de otros marcadores, nos pueden determinar el empleo de un esquema de quimioterapia más intensivo con respecto de lo pacientes con tumores que sean negativos a estos marcadores.

REFERENCIAS

1. Fisher J, Schwartzbaum J, Wrensch M, Wiemels. Epidemiology of Brain Tumors. *Neurol Clin* 2007;25:867-890.
2. Cuevas-Ureostegui ML, Villasis-Keever MA, Fajardo-Gutierrez A. Epidemiología del cáncer en adolescentes. *Salud Pública Mex* 2003;45:115-123.
3. Compendio del Registro Histopatológico de Neoplasias en México. Morbilidad, regionalización 1993-1996 y mortalidad. Tendencias 1985-1995, México. Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. 1998.
4. Nejat F, El Khashab M, Rutka JT. Initial management of childhood brain tumors: neurosurgical considerations. *J Child Neurol* 2008;23:1136-1148.
5. Lopez-Aguilar E, Cerecedo-Diaz F, Sepulveda-Vidosola A, et al. Astrocitomas en pediatría. Factores pronósticos. *Gac Med Mex* 1994;133:231-235.
6. Bailey P, Cushing H. A classification of the tumors of the gliomas group on a histogenetic basis with correlated study of prognosis. Philadelphia: JP Lippincott, 1996.
7. Rorke LB, Gilles FH, Davis RL. Revision of the World Health Organization classification of brain tumors for childhood. *Cancer* 2000;56:1869-1886.
8. Lopez-Aguilar E, Cerecedo-Diaz F, Sepulveda-Vidosola A, et al. Preirradiation with carboplatine, ifosfamide y etoposide in high grade astrocitomas. *Arch Med Res* 2003;98:145-51.
9. Cohen BH, Zeltzer PM, Boyett JM, et al. Prognostic factors and treatment results for supratentorial primitive neuroectodermal tumors in children using radiation and chemotherapy: A children Cancer Group randomized trial. *J Clin Oncol* 1995;13:1687-1696.
10. Ellis RE, Yuan J, Horvitz HR. Mechanisms and functions of cell death. *Annu Rev Cell Biol* 1991;7:663.
11. Martín SJ. Apoptosis: suicide, execution or murder? *Trends Cell Biol* 1993;3:141-44.
12. Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Postema CE, et al. Bcl2 and Bcl2 related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 1993;74:597-603.
13. Minn AJ, Velez P, Schendel SL, et al. BCL x forms an ion channel in synthetic lipid membrane. *Nature* 1997;385:353-357.

14. Yang E, Zha J, Jockel J. Bad a heterodimeric partner for Bcl-2XI and Bcl-2, displaces Bax and promotes cell death. *Cell* 1995;80:285-91.
15. Kaul D, Kaur M. Receptor-CK controls the expression of Bcl2 and cyclin 'D' genes. *Leukemia Res* 1998;22:671-675.
16. Korsmeyer SJ. Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: Regulator of cell death. *Blood* 1992;80:879.
17. Negrini M, Silini E, Kozak C. Molecular analysis of mbcl-2; structure and expression of the murine gene homologous to the human gene involved in follicular lymphoma. *Cell* 1987;49:455-463.
18. Núñez G, Merino R, Grillot D, Gonzales-García M. Bcl-2 y Bcl-x regulatory switches for lymphoid death and survival. *Immunol Today* 1994;15:582-88.
19. Binder C, Marx D, Overhoff R, Binder L, Schauer A, Hiddemann W. Bcl-2 protein expression in breast cancer in relation to established prognostic factors and other clinicopathological variables. *Ann Oncol* 1995;6:1005-10.
20. Tyagi D, Sharma BS, Gupta SK. Expression of Bcl2 proto-oncogene in primary tumors of the central nervous system. *Neurol India* 2002;50:290-4.
21. Stegh AH, Chin L, Louis DN, DePinho RA. What drives intense apoptosis resistance and propensity for necrosis in glioblastoma? A role for Bcl2-L12 as a multifunctional cell death regulator. *Cell Cycle* 2008;7:2833-9.
22. Liu X, Chen N, Wang X. Apoptosis and proliferation markers in diffusely infiltrating astrocytomas: profiling of 17 molecules. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006;65:905-13.
23. Norden Y, Muzikansky K, Ciampa D. Bevacizumab for recurrent malignant gliomas: Efficacy, toxicity, and patterns of recurrence. *Neurology* 2008;70:779-787.
24. Bode S, Buchen G, Janssen T, Reinhard. Results of a phase II trial of h-R3 monoclonal antibody (nimotuzumab) in the treatment of resistant or relapsed high-grade gliomas in children and adolescents. *J Clin Oncol* 2006;24:1522.
25. Kobayashi T, Masumoto J, Tada T, et al. Prognostic significance of the immunohistochemical staining of cleaved caspase-3, an activated form of caspase-3, in gliomas. *Clin Cancer Res* 2007;13:3868-74.
26. Stegh AH, Kesary S, Mahoney JE. Bcl2 L12-mediated inhibition of effector caspase-3 and caspase-7 via distinct mechanisms in glioblastoma. *Proc Natl Acad Sci* 2008;5:10703-8.
27. Tyagi D, Sharma BS, Gupta SK. Expression of Bcl2 proto-oncogene in primary tumors of the central nervous system. *Neurol India* 2002;50:290-4.

CD133 se asocia con el pronóstico en astrocitoma pediátrico

CD133 is associated with prognosis in pediatric astrocytoma

Enrique López-Aguilar,¹ Abril Arellano-Llamas,² Félix Ignacio,³ Ana Sepúlveda-Vildósola,⁴ Francisco Javier García-Vásquez,⁵ Ana Paulina Riosocovian-Soto⁶

▷ RESUMEN

El cáncer cerebral en pediatría, es el primer tumor sólido; los astrocitomas representan 60% de ellos. El cáncer proviene de células troncales positivas para CD133, su expresión se asocia con mal pronóstico en el glioma de adultos, pero el comportamiento molecular de los gliomas de los niños es diferente y no existen informes sobre astrocitomas en pacientes pediátricos. Además CD133 se ha relacionado con la angiogénesis tumoral. Realizamos un estudio ambispectivo, observacional, longitudinal y comparativo. Se incluyeron casos de astrocitoma de cualquier grado entre 1995 y 2008, que recibieron tratamiento estándar, se recopiló información clínica y se obtuvieron muestras tumorales previo al tratamiento de bloques de parafina para fines diagnósticos, de los cuales se tomó una muestra y se realizó inmunohistoquímica (CD133 Cell Signaling clona C24B9). Hubieron 30 casos que cumplieron los criterios de inclusión: los hombres representan 50%; mediana de edad 78.8 meses (rango 16 a 192), menores de tres años 10%, histología: bajo grado 70%, astrocitoma anaplásico 20%, glioblastoma multiforme 10%; inmunohistoquímica positiva para CD133 14 casos con tinción membranar y citoplasmática.

▷ ABSTRACT

Brain cancer in pediatric age is the first solid tumor, the astrocytoma represent 60% of all brain cancer. Cancer arise from troncal cells that are positive for CD133, its expression is associated with worse prognosis than CD133 negative in adult glioma, however the biological behavior of adult and pediatric astrocytomas are different, and there are no reports of CD133 expression in the pediatric group. Besides CD133 has been related with angiogenesis in cancer. We have done ambispective, observational, longitudinal and comparative study. We included any grade pediatric astrocytoma diagnosed between 1995 and 2008, who received standardized treatment. Clinic information was recuperated. From the tumor samples taken for diagnosis before treatment, it was taken a slide to perform immunohistochemistry (CD133 Cell Signaling Clone C24B9). There were analyzed 30 cases, 50% were men, the age 78.8 months (16 to 192), less than three years old 10%; low grade astrocytoma 70%, anaplastic astrocytoma 20% and multiform glioblastoma 10%; CD133+ 14 cases with a membranar and cytoplasmic pattern. The high grade astrocytomas were CD133+ in 66.6% of cases, and low grade 52% ($p = 0.240$). The surveillance for the CD133+ group was 22.5% less than CD133- group (log Rank Test 0.274). The CD133+ pediatric astrocytomas had less surveillance, but there

1Médico Pediatra Oncólogo adscrito al servicio de Oncología Pediátrica

2Residente de cuarto año de la especialidad en Pediatría Médica Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI, IMSS.

3Neuropatólogo adscrito al servicio de Patología del Hospital de Especialidades del CMN Siglo XXI, IMSS.

4Jefa del servicio de Enseñanza e Investigación en Salud Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI, IMSS.

5Químico. Departamento de Patología del Instituto Nacional de Pediatría, SSA.

6Oncóloga Pediatra. Hospital Pediatría CMN Siglo XXI, IMSS.

Correspondencia: Dr. Enrique López-Aguilar. Servicio de Oncología Pediátrica. Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI. Ave Cuauhtémoc. 330. Delegación Cuauhtémoc, Col. Doctores. 06720. Teléfono: 5627 6900. Correo electrónico: elopezaguilar@hotmail.com

Tumores de alto grado fueron positivos para CD133 66.6%, los de bajo grado 52% ($p = 0.240$). La supervivencia del grupo CD133+ fue 22.5% menor que la del grupo CD133- (Log Rank Test 0.2749). Los astrocitomas en niños CD133+ tuvieron menor sobrevida aunque no hubo significancia estadística por la heterogeneidad de la muestra. Se observan diferencias de la expresión de CD133 en los diversos grados de los tumores. Los tumores CD133 positivos deberían recibir tratamientos más agresivos que incluyan antiangiogénicos.

Palabras clave: Astrocitoma, CD133, prominín, pronóstico, pediatría, México.

were not statistical significance because the sample heterogeneity, there are different grades of expression of CD133 for each grade of astrocytoma. CD133+ astrocytoma should receive aggressive antiangiogenic chemotherapy.

Keywords: Astrocytoma, CD133, prominín, prognosis, pediatric, Mexico

▷ INTRODUCCIÓN

En nuestro país los tumores del sistema nervioso central representan 10% de los cánceres infantiles (incluyendo leucemias y linfomas).¹ De ellos los astrocitomas son los más comunes.² Se clasifican según la OMS en una escala de grados según la conducta biológica,^{3,4} y con esta clasificación se predice: respuesta al tratamiento y pronóstico.⁴

El pronóstico de los astrocitomas grado IV, en series que contienen pacientes pediátricos y adultos, la supervivencia media raramente excede los 12 meses.^{3,4} Un estudio realizado en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, en astrocitomas de alto grado, en el que se utilizó quimioterapia (ifosfamida, carboplatino y etopósido) previo a la radiación, consiguió supervivencia global a 60 meses de 67% de los casos y libre de enfermedad de 56%.⁵

El comportamiento molecular de los tumores cerebrales en los niños es diferente al de los adultos, por ejemplo, aunque los gliomas de alto grado de adultos sobreexpresan la proteína EGFR, la amplificación del gen es rara en niños. Las observaciones obtenidas de los glioblastomas multiformes en adultos no son extrapolables a la población pediátrica.⁶⁻⁸

La estratificación por riesgo es muy importante. El análisis del riesgo puede diferenciar a los pacientes en un grupo que requiera tratamiento agresivo de un grupo de bajo riesgo para el que es suficiente un protocolo terapéutico de menor agresividad.⁹

Sólo pocas células atípicas dentro de la masa tumoral son responsables del crecimiento y recurrencia de algunos cánceres cerebrales. Son células troncales, transformadas a tipo celular de sistema nervioso central con habilidad de iniciar cáncer, una célula tumoral cerebral troncal.¹⁰ Las células

troncales tienen las capacidades que requieren las células para ser cancerosas.¹¹⁻¹³

El marcador de células troncales CD133 se describió en células humanas hematopoyéticas^{14,15} y células neuroepiteliales murinas.^{16,17} Su función es desconocida, pero se reconoce como marcador de células troncales de tejidos normales y cancerosos.¹⁴⁻²⁵ Este marcador podría tener relación con la carcinogénesis por dos vías: la tumorigénesis y la angiogénesis.

Las células tumorales CD133+ son tumorigénicas. Singh (2003),¹⁰ describió *in vitro* que las células CD133+ de un glioblastoma multiforme de adulto son capaces de generar esferas tumorales y cáncer xenográfico fenotípicamente igual que el del paciente del que se obtuvieron estas células.

Se ha estudiado la expresión de CD133 en astrocitomas de adultos y la expresión no es detectable en tumores de bajo grado, y es positiva hasta 96% en el estadio IV. La expresión de CD133 concede un riesgo de 17.46 (IC 95%, 5.49-55.52) y la organización topológica en agrupamiento un riesgo 5.62 (IC 95%, 2.04-15.51) $p < 0.001$ como elementos pronósticos significativos de menor supervivencia global independientes del grado OMS del tumor, edad, o extensión de la resección, resultados similares para supervivencia libre de progresión con células positivas y con formación en grupos (OR, 8.13; 95% IC, 3.63-18.25; $p < 0.001$) y (OR, 4.67; 95% IC, 1.94-11.23), respectivamente además la expresión elevada de CD133 se asocia a mayor incidencia de recaída tumoral.²⁶

El comportamiento molecular de los astrocitomas en la edad pediátrica, no se ha elucidado por completo y se ha observado que sólo una parte de las células dentro del tumor tiene capacidad carcinogénica en modelos *in vivo*, y expresan el marcador de células troncales de cáncer

CD133. La expresión de este marcador en astrocitomas de pacientes adultos se asocia con el pronóstico y grado de la enfermedad; sin embargo, en población pediátrica, el comportamiento molecular de los gliomas es diferente al de los adultos, y no se ha establecido la expresión de CD133 ni su asociación con el pronóstico de la enfermedad.

▷ OBJETIVO

Determinar si la expresión de la molécula CD133, en los astrocitomas de pacientes pediátricos, se asocia con el pronóstico de los mismos.

▷ MÉTODOS

Se realizó un estudio ambispectivo, observacional, longitudinal y comparativo, constituido por una cohorte que se clasificó y comparó en función de la expresión de CD133. La población que se examinó estuvo constituida por pacientes con astrocitoma de alto y bajo grado que fueron diagnosticados en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI entre enero de 1995 y diciembre de 2008.

Se incluyeron pacientes con diagnóstico de certeza, de género indistinto y que no hubiesen recibido ningún tratamiento al momento de obtenerse la muestra de tejido tumoral que se usó para este estudio, con un tiempo mínimo de observación de dos meses. Se obtuvo muestra del tejido tumoral la cual se mantenía conservada en parafina en el archivo histológico del servicio de patología. De esta muestra, un médico patólogo, ciego a la evolución del paciente, efectuó diagnóstico histológico y determinó el grado de malignidad con la escala de la OMS. Por otro lado se realizó inmunohistoquímica para determinar la expresión de la molécula CD133 en el tumor.

Inmunohistoquímica: De las muestras parafinizadas del tumor se realizaron cortes de tres micras de espesor, se desparafinaron y rehidrataron (tren de alcoholes y agua deionizada). Se expuso el epítipo con citrato y presión. Se utilizó anticuerpo policlonal primario de conejo anti CD133 (1:100 clona C24B9, Cell Signaling Danvers, MA, USA) y se incubó por media hora. Se agregó anticuerpo secundario (anti-conejo) que se incubó por una hora. Se reveló la reacción con diaminobenzidina y contra tinción con hematoxilina.

El control negativo se sometió a toda la metodología, excepto la aplicación de anticuerpo primario. Se caracterizó un control positivo de riñón sano pediátrico, en el que se observó tinción positiva para las células glomerulares únicamente. La tinción fue citoplasmática y membranar, con una intensidad adecuada. La reacción

Tabla 1.
Características de la muestra.

	Mediana	n	%	Rango
Hombres		15	50	
Edad (meses)	78.8			16-192
Menores de 36 meses		3	10	
Vivo		15	56.7	
Histología				
Bajo grado		21	70	
Astrocitoma anaplásico		6	20	
Glioblastoma multiforme		3	10	
Localización tumoral				
Supratentorial		10	33.3	
Infratentorial		13	43.3	
Tallo cerebral		7	23.3	
Expresión CD133+		14	46.7	

se caracterizó como ausencia de expresión, expresión positiva (>1%) y se clasificó en moderada (<50%) y alta (>50%).

La observación de la inmunohistoquímica fue realizada por un médico neuropatólogo experto, quien revisó 10 campos de alta resolución, y estableció el porcentaje de positividad.

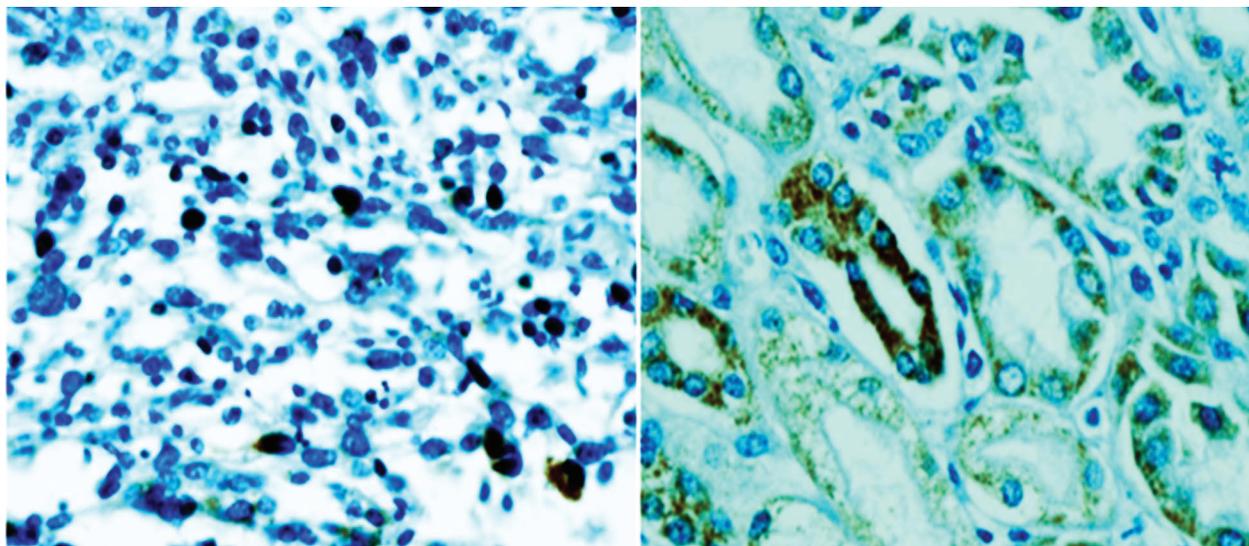
Estadística: Se utilizó estadística descriptiva para caracterizar la muestra. Se determinó la kurtosis y lordosis para establecer el tipo de estadística apropiada para el análisis. Se realizó curva de supervivencia con función de supervivencia actuarial y se probó la diferencia entre los grupos con la prueba de Log Rank. Se realizó prueba de *Ji cuadrada* para determinar la asociación de las variables cualitativas y el OR para determinar el riesgo de morir.

▷ RESULTADOS

Se obtuvo una muestra inicial de 32 casos, dos se tuvieron que descartar por mala calidad de la muestra tumoral (ambos lesiones de bajo grado), el seguimiento fue de seis a 169 meses. La muestra (**Tabla 1**) se constituyó por pacientes del género masculino en 50% de los casos. Menores de tres años representaron 10% de la muestra, desde tres años y hasta seis años 40% de la muestra, mayores de seis años hasta nueve años 16.7% de la muestra, nueve a 12 años el 13.3% de los casos y mayores de 12 años 20% de los casos, la mediana de edad fue de 78.58 meses (13.2 años) con un rango de 16 a 192 meses. La supervivencia global fue de 56.7% (17/30) y el rango fue de dos a 169 meses

Figura 1.

Fotografía de reacción de inmunohistoquímica positiva para CD133. La intensidad de la tinción de la muestra, es menor que el control.



Muestra positiva para CD133.

Control positivo. Riñón.

Los tumores fueron de bajo grado en 70% de los casos (21/30), astrocitoma anaplásico 20% (6/30) y glioblastoma multiforme 10% (3/10). Respecto a la localización del tumor: supratentorial 33.3% de los casos (10/30), infratentorial 43.3% (13/30) y en el tallo cerebral en 23.3% de los casos (7/30). Catorce fueron positivos para CD133 (**Figura 1**), la intensidad de la tinción respecto al control positivo fue igual o menor, no hubo ningún caso que rebasara la intensidad del control. Además se notó que las células CD133 positivas tuvieron una tinción citoplasmática y membranar y que las células positivas no se observaron en aglomerados, sino en forma dispersa.

Se buscó asociación entre diversas variables (**Tabla 2** y **3**). En cuanto al género y la sobrevivencia, encontramos que hubo seis mujeres muertas y siete hombres al final del estudio ($p = 0.713$). Respecto a la histología tumoral y el estado (**Figura 2**), hubo siete pacientes con tumor de bajo grado muertos (33.3% de los casos de astrocitomas de bajo grado), de astrocitoma anaplásico murieron cuatro (66.66% de los casos de astrocitomas anaplásicos) y en cuanto a los pacientes con glioblastoma multiforme, 66.6% de los pacientes estuvieron muertos para el final del estudio; la prueba de *Ji cuadrada* para determinar asociación entre el estado y la histología tumoral resultó con valor $p = 0.240$. En cuanto a la relación de la edad y el estado, se clasificó la muestra en menores de 36 meses y mayores de esta edad. De los menores de 36 meses, todos estuvieron muertos al final del estudio, y en cuanto a

Tabla 2.

Asociación de las variables con el estado.

	<i>p</i>
Género	0.713
Histología	0.240
Edad	0.70

Tabla 3.

Asociación de las variables con la expresión de CD133.

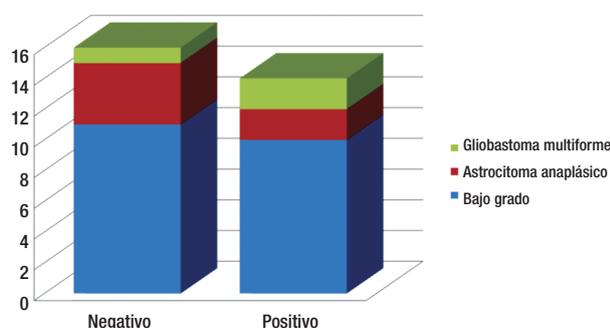
	<i>p</i>	OR	IC 95%
Sobrevivencia	0.626	0.984	0.526-1,842
Histología	0.623		
Localización tumoral	0.126		

los mayores, murió el 37.03% del grupo de esta edad (10/27 casos; $p = 0.70$).

En cuanto a la expresión de CD133 y el estado encontramos que los casos CD133- murieron siete pacientes (43.74% de los casos negativos) y de los casos CD133+ murieron seis pacientes (42.85% de los casos CD133+) la $p = 0.626$, OR 0.984 IC 95% 0.526-1.842)

Figura 2.

Relación entre la expresión de CD133 y la histología tumoral $p = 0.632$.



Los astrocitomas de bajo grado fueron principalmente negativos para el marcador CD133 (52% de los casos); los astrocitomas anaplásicos fueron principalmente positivos en la inmunohistoquímica para CD133 (66.6% de los casos) igualmente en el caso de los glioblastomas multiformes (66.6% de los casos) la mitad del grupo de glioblastoma multiforme con CD133+ estuvo muerto para el final del estudio.

La curva de supervivencia mostró una diferencia entre el grupo CD133+ y el grupo CD133- fue de 22.5%, la prueba estadística Log Rank Test mostró una significancia estadística de 0.2749.

► DISCUSIÓN

Los astrocitomas son cánceres que provocan gran morbilidad, las características de la muestra que se estudio coinciden con lo reportado de la epidemiología de estas neoplasias en cuanto a la localización tumoral, histología tumoral y pronóstico para la edad en la población pediátrica.²

La molécula CD133, es un marcador de células troncales de cáncer,¹⁰ se ha relacionado positivamente con el pronóstico de varias neoplasias, incluida el glioblastoma multiforme.²⁶ En varios tumores pediátricos como neuroblastoma la expresión también se relaciona con mal pronóstico.²⁷

En este estudio logramos demostrar una diferencia de supervivencia de 22.5% entre los tumores CD133+ y CD133- siendo peor para los primeros, como se observa claramente en la curva de Kaplan Meyer; sin embargo, no se logró significancia estadística del resultado debido a que la muestra es heterogénea en cuanto al tipo histológico (sólo 10% de la muestra fueron glioblastomas multiformes). Por otro lado se demostró que los astrocitomas de alto grado (astrocitoma anaplásico y glioblastoma

multiforme) expresan en mayor proporción CD133 (66.6% de los casos) que los astrocitomas de bajo grado (52% de los casos). Estos resultados descriptivos coinciden con las observaciones realizadas en adultos en el sentido de que entre mayor agresividad tumoral, mayor expresión de células iniciadoras de cáncer,²⁶ menor supervivencia, y no logramos observar si aquellos tumores de bajo grado con células CD133 positivas degeneraron en progresión tumoral.

Proponemos que el seguimiento de los pacientes que tuvieran astrocitoma de bajo grado con positividad para CD133 deberá ser más prolongada, con el fin de determinar el pronóstico de estos tumores, pues es posible que éstos al contener células troncales de cáncer puedan devenir posteriormente en glioblastomas secundarios como se había notado en los experimentos *in vitro*¹⁰ y la observación *in vivo*.²⁶

La cantidad de células dentro de un tumor que son capaces de desencadenar cáncer son una minoría, las CD133+, bajo este enfoque, es probable que no siempre se logren observar con la técnica de inmunohistoquímica aún cuando sí existan dentro de la masa tumoral.²⁶ Por lo tanto, proponemos que se empleen técnicas que logren identificar las células CD133+ (la minoría dentro de la masa tumoral) con otras técnicas más sensibles como la citometría de flujo, de la misma manera en que se ha hecho para otras neoplasias.

El marcador CD133 se correlaciona en diversos estudios con angiogénesis, que es un fenómeno indispensable para la supervivencia de un tumor, pues de allí depende su nutrición.¹³ Estudios de cánceres que dependen de la angiogénesis para determinar su pronóstico como el mieloma múltiple,²⁸ han demostrado que la molécula *prominin* es un marcador de células endoteliales madre²⁷ y no sólo eso, la agrupación de las células CD133+ alrededor de vasos otorga un peor pronóstico para los glioblastomas.²⁶ Por lo tanto, se hace obligatorio que a los tumores con expresión positiva para CD133 se les otorguen esquemas terapéuticos más agresivos.

Conocer las vías moleculares que subyacen al cáncer ha logrado que se construyan moléculas dirigidas a blancos terapéuticos muy específicos, y que se mejore en forma ostensible el pronóstico de los pacientes. Este tipo de estudios constituyen la primera aproximación al comportamiento biológico de un tumor y son indispensables para determinar hacia dónde se dirigirán los esfuerzos de la investigación básica y clínica dentro de los siguientes años. Nuestra investigación, es la primera en informar la expresión de CD133 en astrocitomas de pacientes pediátricos, lo que constituye un avance importante en el progreso de la oncología pediátrica.

El cáncer del sistema nervioso central tiene un gran impacto en la morbimortalidad de aquellos que lo padecen y es indispensable, dada la incidencia de esta patología, orientar más esfuerzos económicos y humanos a su conocimiento.¹

▷ CONCLUSIONES

1. Existe una diferencia de la supervivencia de pacientes con astrocitomas CD133+ respecto a los CD133 negativos de 22.5%, pero no se observó significancia estadística de esta observación
2. La molécula prominín-1 se expresa más en tumores con histología de alto grado que de bajo grado, pero no hay significancia estadística de esta observación
3. A pesar de que no existe significancia estadística en cuanto a la sobrevida, es importante considerar la positividad de CD133 para un tratamiento más intenso con antiangiogénicos (como nimotuzimab y bevacizumab)

REFERENCIAS

1. Fajardo-Gutiérrez A, Mejía-Arangur J, et al. Epidemiología descriptiva de las neoplasias malignas en niños. *Rev Panam Salud Publica* 1999;6:75.
2. López-Aguilar E, Sepúlveda-Vildósola AC, Rivera-Márquez H, et al. Preirradiation ifosfamide, carboplatin and etoposide (ICE) for the treatment of high-grade astrocytomas in children. *Childs Nerv Syst* 2003;19:818-23.
3. Agulnik M, Mason WP. The changing management of low-grade astrocytomas and oligodendrogliomas. *Hematol Oncol Clin North Am* 2006;20:1249-66.
4. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007;114:97-109.
5. López-Aguilar E, Sepúlveda-Vildósola AC, Betanzos-Cabrera Y, et al. Phase II study of metronomic chemotherapy with thalidomide, carboplatin-vincristine-fluvestatin in the treatment of brain stem tumors in children. *Arch Med Res* 2008;39:655-62.
6. Packer RJ, MacDonald T, Vezina G. Central nervous system tumors. *Pediatr Clin North Am* 2008;55:121-45.
7. Rivera-Luna R, Zapata-Tarrés M, Medina-Sansón A, et al. Long-term survival in children under 3 years of age with low-grade astrocytoma. *Childs Nerv Syst* 2007;23:543-7.
8. Faury D, Nantel A, Dunn SE, et al. Molecular profiling identifies prognostic subgroups of pediatric glioblastoma and shows increased YB-1 expression in tumors. *J Clin Oncol* 2007;25:1196-208.
9. López-Aguilar E, Sepúlveda-Vildósola AC, Rivera-Márquez H, et al. Clinical and molecular parameters for risk stratification in Mexican children with medulloblastoma. *Arch Med Res* 2007;38(7):769-73.
10. Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004;432(7015):396-401.
11. Bao S, Wu Q, McLendon RE, et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature* 2006;444(7120):756-60.
12. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001;414:105-11.
13. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell* 2000;100:57-70.
14. Miraglia S, Godfrey W, Yin AH, et al. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: isolation, characterization, and molecular cloning. *Blood* 1997;90:5013-21.
15. Yin AH, Miraglia S, Zanjani ED, et al. AC133, a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood*. 1997;90:5002-12.
16. Weigmann A, Corbeil D, Hellwig A, Huttner WB. Prominin, a novel microvilli-specific polytopic membrane protein of the apical surface of epithelial cells, is targeted to plasmalemmal protrusions of non-epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:12425-30.
17. Salven P, Mustjoki S, Alitalo R, Alitalo K, Rafii S. VEGFR-3 and CD133 identify a population of CD34+ lymphatic/vascular endothelial precursor cells. *Blood* 2003;101:168-72.
18. Uchida N, Buck DW, He D, et al. Direct isolation of human central nervous system stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97:14720-5.
19. Lee A, Kessler JD, Read T, et al. Isolation of neural stem cells from the postnatal cerebellum. *Nat Neurosci* 2005;8:723-9.
20. Sagrinati C, Netti GS, Mazzinghi B, et al. Isolation and characterization of multipotent progenitor cells from the Bowman's capsule of adult human kidneys. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2443-56.
21. Richardson GD, Robson CN, Lang SH, et al. CD133, a novel marker for human prostatic epithelial stem cells. *J Cell Sci* 2004;117(Pt16):3539-45.
22. Kordes C, Sawitza I, Müller-Marbach A, et al. CD133+ hepatic stellate cells are progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;352:410-7.
23. Oshima Y, Suzuki A, Kawashimo K, et al. Isolation of mouse pancreatic ductal progenitor cells expressing CD133 and c-Met by flow cytometric cell sorting. *Gastroenterology* 2007;132:720-32.
24. Sugiyama T, Rodriguez RT, McLean GW, Kim SK. Conserved markers of fetal pancreatic epithelium permit prospective isolation of islet progenitor cells by FACS. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:175-80.
25. Ito Y, Hamazaki TS, Ohnuma K, et al. Isolation of murine hair-inducing cells using the cell surface marker prominin-1/CD133. *J Invest Dermatol* 2007;127:1052-60.
26. Zeppernick F, Ahmadi R, Campos B, et al. Stem cell marker CD133 affects clinical outcome in glioma patients. *Clin Cancer Res* 2008;14:123-9.
27. Tong Q, Zheng L, Tang S, et al. Expression and clinical significance of stem cell marker CD133 in human neuroblastoma. *World J Pediatr* 2008;4:58-62.
28. Zhang H, Vakil V, Braunstein M, et al. Circulating endothelial progenitor cells in multiple myeloma: implications and significance. *Blood* 2005;105:3286-94.

Sobreexpresión de p53 como factor pronóstico en niños con astrocitomas

p53 overexpression prognostic factor in children with astrocytoma

Enrique López-Aguilar,¹ Ana Carolina Sepúlveda-Vildósola,² Ana Paulina Rioscovián-Soto,¹ Lupita Mendoza-Galván,² Francisco García-Vázquez,³ Félix Ignacio,⁴ Hermilo De La Cruz-Yáñez⁵

▷ RESUMEN

Introducción: La sobrevida de pacientes con astrocitoma es de 56% a 60 meses. Es necesario identificar factores que influyen en el pronóstico. La expresión de la molécula p53, una proteína apoptótica que al presentar mutaciones en su estructura condicionan su sobreexpresión, alterando la regulación del ciclo celular y predisponiendo así a progresión, proliferación celular y desarrollo de neoplasias con alto grado de malignidad. El objetivo de este estudio fue determinar la asociación sobreexpresión de p53 con la sobrevida.

Métodos: Se incluyeron pacientes con diagnóstico de astrocitoma atendidos entre 1995 y 2009. Se realizó inmunohistoquímica, para determinar la expresión de p53, y se correlacionó con la histología tumoral y la sobrevida de los pacientes.

Resultados: Se incluyeron 35 pacientes. La sobrevida global fue de 56% a 10 años y la mediana de seguimiento de 32 meses (dos a 169 meses). Para la expresión de p53, 65.7% (23 pacientes) fueron negativos. La sobrevida para los pacientes que no sobreexpresaron p53 fue de 69.5% a 120 meses, contra 40% a 120 meses para aquellos con sobreexpresión de p53 ($p=0.21$, no significativa). El riesgo (OR) de desarrollar glioblastoma multiforme cuando existe sobreexpresión de la proteína p53 es de 4.4 (0.356 a 54.36).

▷ ABSTRACT

Background: Astrocytomas survival is less than 60% at five years in children. It is necessary to know better the biological behavior of these tumours and in this way to give a more appropriate treatment. p53 protein is an apoptotic protein and the dysregulation of this oncogene could result in immortality of tumour cells.

Methods: We included all patients with astrocytoma diagnosed between January 1995 to December 2009. Immunohistochemistry was realized and sobreexpresión of p53 gene determined. Kaplan Meier curves survival and Log Rank Test was calculated in order to determinate the association with histological grade and survival.

Results: 35 patients were included; the global survival for the entire group was 56% at 10 years (median follow up 32 months). According with the p53 over expression, these patient that overexpressed these gene, the survival at the same interval was 40% compared with 69.5% for the group of patients that not over expressed p53 ($p = 0.21$). It was not statistical significance.

Discussion: p53 is associated with a poor survival, in this group of patients however not statistical significance was found. But it is important that these patients with p53 overexpression were associated with more aggressive histology (OR: 4.1)

Keywords: Astrocytoma, p53, pediatric cancer, Mexico

1Departamento de Oncología Pediátrica.

2Departamento de Pediatría Médica.

3Departamento de Patología.

Instituto Nacional de Pediatría.

4Departamento de Patología.

Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional SXXI, IMSS.

5Dirección General

UMA Hospital de Pediatría CMN SXXI, IMSS

Correspondencia: Dr. Enrique López Aguilar. Av. Cuauhtémoc 330, Col. Doctores, Del. Cuauhtémoc, CP 01620. México, D. F. Teléfono: 56276 9900 Ext. 22500. Correo electrónico: elopezaguilar@hotmail.com

Conclusiones: La sobrevida en aquellos pacientes que sobreexpresan p53 es menor, es necesario que en todo paciente con astrocitoma se realice determinación de expresión de p53 en tejido fresco al menos mediante inmunohistoquímica y en caso positivo, dar un tratamiento más agresivo.

Palabras clave: p53, astrocitoma, cáncer pediátrico, México.

▷ ANTECEDENTES

Los tumores cerebrales representan el tipo de tumor sólido más frecuente en la edad pediátrica. A nivel mundial, la incidencia se encuentra entre 10 y 18 casos por millón por año. La frecuencia de presentación de los tumores cerebrales es de 12%.¹ Los más frecuentes son los que se derivan de la glía, hasta en 60% y de estos los astrocitomas.^{1,2} La expectativa de vida de acuerdo a la SEER (Surveillance, Epidemiology, End Result) a los cinco años es de 50%.^{3,4-7}

El conocimiento de los factores pronósticos, permite adecuar el tratamiento a éstos pacientes. A pesar de que se conocen algunos factores pronósticos, continúa habiendo un grupo de pacientes con evolución desfavorable, por lo que es importante determinar los factores que llevan a un peor pronóstico, y de esta manera diferenciarlos y tratarlos de una manera más intensiva.

Los factores de mal pronóstico ya conocidos son: edad menor de tres años, ya que a estos pacientes no se puede ofrecer radioterapia, así como localización e histología. Se han identificado también diversos marcadores biomoleculares que influyen en el pronóstico de estos pacientes. Entre ellos los factores de crecimiento celular que son proteínas que en condiciones fisiológicas regulan el crecimiento y la diferenciación celular. La sobreexpresión de estos se asocia por lo general a una mayor agresividad biológica y su identificación ha permitido el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.⁵

La proteína p53 es una cadena de 393 aminoácidos, llamada *el guardián del genoma*, promueve los mecanismos de reparación del DNA mediante detección y detención de células con daño de DNA en la fase G1 del ciclo celular. Alternativamente, puede inducir también muerte celular mediante la activación de la apoptosis cuando existen daños genómicos irreparables. El gen que codifica para la

proteína p53 se ubica en el cromosoma 17, actúa como factor de transcripción uniéndose a promotores de genes implicados en la reparación de ADN.⁸⁻¹²

La detección de una sobreexpresión de productos de p53 mediante IHQ se ha asociado con la identificación de mutaciones en el gen TP53 en un gran número de estudios clínicos.¹³⁻²⁶

El objetivo del presente estudio fue determinar si existe asociación entre la sobreexpresión de p53 con la sobrevida de pacientes con astrocitoma y su asociación con la histología de alto o bajo grado.

▷ MÉTODOS

El presente estudio se realizó en el Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI, durante 2010; se analizaron los expedientes de pacientes diagnosticados con astrocitoma durante el periodo comprendido entre 1995 a 2009. El protocolo fue aprobado por el Comité local de investigación (R-2008-3603-26). Se incluyó a todos los pacientes menores de 17 años con diagnóstico de astrocitoma establecido en el servicio de Patología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, que contaban con expedientes completos así como muestra del tumor en bloque de parafina. Todos los pacientes con astrocitomas de alto grado recibieron tratamiento por el servicio de Oncología del Hospital, con el protocolo ICE (carboplatino: 400 mg/m²/día, en día uno, seguido de ifosfamida: 2 g/m² días uno, dos, tres y etopósido: 100/mg/m²/día días uno, dos tres cada cuatro semanas por cuatro cursos), seguido de radioterapia (5400 cGy). Aquellos pacientes con astrocitomas de bajo grado recibieron esquema de quimioterapia con carboplatino 350 mg/m²SC días uno y dos, vincristina 2 mg/m²SC día uno, en cursos repetidos cada cuatro semanas por cuatro cursos seguidos de radioterapia. Se eliminaron

a todos aquellos pacientes que abandonaron el tratamiento o cuyas muestras no pudieron ser procesadas por muestra insuficiente.

Se tomaron de los expedientes los siguientes datos: edad al diagnóstico, sexo, diagnóstico histopatológico, localización de la tumoración, tipo de cirugía así como volumen tumoral residual, fecha de diagnóstico y fecha de defunción o última cita.

Luego de la captura de todos aquellos pacientes con diagnóstico de astrocitoma por patología, se buscaron expedientes y se recolectó información sobre edad al diagnóstico, sexo, localización de tumor, fecha de diagnóstico, quimioterapia utilizada, dosis de RT en aquellos casos en que se utilizó, fecha de recidiva en caso de presentarse y estado actual del paciente, obteniendo con ello el periodo libre de enfermedad y sobrevida global.

Mediante técnica de inmunohistoquímica, se realizó la determinación de expresión de p53 en la célula de tejido tumoral conservado en los bloques de parafina y tejido fresco en congelación, los primeros fueron del servicio de patología de éste hospital, en tanto que los segundos, se encontraban en mantenimiento en el laboratorio de investigación de tumores del SNC.

La técnica de inmunohistoquímica se realizó con registro de los siguientes datos: número de biopsia o pieza quirúrgica, nombre del anticuerpo a detectar y nombre del médico solicitante. Se buscó un bloque con un control positivo (testigo) al anticuerpo para p53, en nuestro caso se utilizó como testigo cáncer de mama. Se realizaron los cortes histológicos de los bloques de parafina, de un grosor de cuatro micras, montados en laminillas tratadas con poli-L-lisina y en una sola laminilla se colocaron el caso y el testigo. Previa desparafinación de las laminillas a 60°C durante 30 minutos, colocación posterior en xilol y etanol, se realizó la hidratación de los bloques de parafina. Posteriormente se realizó la recuperación de epítopes, mediante el proceso de *desenmascaramiento de epítopes*, con solución de desenmascaramiento de citrato de sodio (Diva Decloaker 10X⁺, Biocare Medical, DV 2004MX, Preparación a 1X⁺). Se procedió a realizar inmuno-tinción mediante el sistema de biotina-estreptavidina-peroxidasa, en la que se incubó el anticuerpo primario anti-p53 (de ratón antihumano, CLONA DO7), el anticuerpo secundario biotinilado (DAKO BIOTINYLATED LINK UNIVERSAL, REF K0690) y se aplicó el complejo estreptavidina-peroxidasa con cuatro moléculas de peroxidasa para amplificar la señal (DAKO ESTREPTAVIDIN-HRP, REF K0690), posteriormente se reveló con cromógeno 3,3 D-aminobencidina (DAB) (BIOCARE MEDICAL, DABCHROMOGENKIT, REFDB801L).

Realizando una contratinción con hematoxilina de Gill por un lapso de 3 minutos y deshidratación nuevamente de las muestras, se realizó lectura al microscopio de luz.

Se consideró como sobreexpresión cuando más de 50% de los campos estudiados mostraron inmunorreactividad nuclear positiva.

► RESULTADOS

Se incluyó un total de 35 pacientes; 18 niñas (51.4%) y 17 niños, con una relación mujer:hombre de 1.05:1. La media de edad al momento del diagnóstico fue de 70.4 meses (16 a 192 meses). Sólo cuatro pacientes fueron menores de tres años de edad. Con respecto a la localización, 13 pacientes (37.1%) tuvieron astrocitoma de localización infratentorial, 12 (34.3%) fueron supratentoriales y 10 (28.6%) localizados en tallo cerebral. De acuerdo con el grado de malignidad, 23 pacientes (65.7%) cursaron con astrocitoma de bajo grado, nueve pacientes (25.7%) tuvieron astrocitoma anaplásico y tres (8.6%) fueron glioblastoma multiforme (**Tabla 1**).

De los pacientes incluidos, 21 (60%) están vivos; con 64% de los hombres vivos *vs.* 55% de las niñas ($p = 0.418$). La mediana de supervivencia de todo el grupo fue de 32 meses (dos a 169 meses). De acuerdo con la edad, 125% de los pacientes menores a 36 meses están vivos, en comparación con el 64.5% de aquellos mayores de tres años de edad ($p = 0.165$).

La mortalidad según la histología fue seis pacientes con astrocitoma de bajo grado (26%). Cinco pacientes con astrocitoma anaplásico (55.5%) y tres pacientes (100%) con glioblastoma multiforme ya murieron ($p = 0.026$).

De los pacientes con localización supratentorial, 50% murieron, comparado con un 38.4% de aquellos con localización infratentorial y 30% de los de localización en tallo cerebral ($p = 0.628$).

Al realizar la inmunohistoquímica encontramos que 23 pacientes (65.7%) fueron negativos para la sobreexpresión de p53; de los cuáles, 16 (69.5%) están actualmente vivos *vs.* 41.6% de aquellos con sobreexpresión de p53 positiva ($p = 0.109$), como se muestra en la **Figura 1**.

Dos de los tres pacientes (66.6%) con glioblastoma multiforme, sobreexpresaron p53, mientras que solo tres de los nueve pacientes (33.3%) con astrocitoma anaplásico y siete (30.4%) pacientes con astrocitoma de bajo grado, fueron positivos para la sobreexpresión de p53 ($p = 0.460$).

Tras un análisis de regresión múltiple, se evidenció que sólo una edad menor a tres años ($p = 0.39$) y la histología de alto grado (astrocitoma anaplásico y glioblastoma

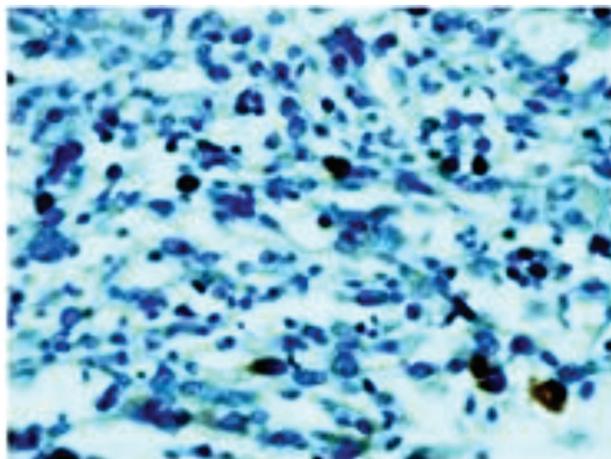
Tabla 1.

Características de los pacientes.

Paciente	Edad al diagnóstico (meses)	Sexo	Localización	Histología	Expresión p53	Estado actual
1	16	M	supratentorial	bajo grado	+	muerto
2	36	M	supratentorial	glioblastoma multiforme	+	muerto
3	56	M	supratentorial	glioblastoma multiforme	+	muerto
4	61	H	infratentorial	anaplásico	+	muerto
5	91	H	tallo cerebral	bajo grado	+	vivo
6	82	H	supratentorial	anaplásico	+	muerto
7	150	M	supratentorial	bajo grado	+	vivo
8	31	H	infratentorial	bajo grado	+	muerto
9	54	M	infratentorial	bajo grado	+	vivo
10	31	H	infratentorial	bajo grado	+	vivo
11	45	M	tallo cerebral	anaplásico	+	muert
12	92	F	tallo cerebral	bajo grado	+	vivo
13	60	H	infratentorial	bajo grado	-	muerto
14	48	H	supratentorial	bajo grado	-	vivo
15	31	M	tallo cerebral	bajo grado	-	vivo
16	40	M	supratentorial	glioblastoma multiforme	-	muerto
17	192	H	tallo cerebral	anaplásico	-	vivo
18	61	H	tallo cerebral	anaplásico	-	vivo
19	87	M	tallo cerebral	bajo grado	-	vivo
20	46	F	tallo cerebral	bajo grado	-	vivo
21	58	H	tallo cerebral	anaplásico	-	muerto
22	39	F	supratentorial	bajo grado	-	muerto
23	85	H	tallo cerebral	anaplásico	-	muerto
24	36	F	infratentorial	bajo grado	-	muerto
25	103	H	supratentorial	bajo grado	-	vivo
26	69	F	infratentorial	bajo grado	-	muerto
27	132	H	supratentorial	bajo grado	-	vivo
28	149	H	infratentorial	bajo grado	-	vivo
29	51	F	infratentorial	bajo grado	-	vivo
30	38	F	supratentorial	bajo grado	-	vivo
31	144	H	supratentorial	bajo grado	-	vivo
32	66	H	infratentorial	bajo grado	-	vivo
33	86	H	infratentorial	bajo grado	-	vivo
34	38	F	infratentorial	anaplásico	-	vivo
35	62	F	infratentorial	anaplásico	-	vivo

Figura 1.

Sobreexpresión p53 en paciente con astrocitoma.



multiforme) ($p = 0.006$) fueron predictores independientes de supervivencia (**Tabla 2**).

La supervivencia de acuerdo al método de Kaplan Meier para los pacientes que no sobreexpresaron p53 fue 69.5% a 120 meses contra 40% a 120 meses para aquellos con sobreexpresión de p53: Log Rank test $p = 0.2189$ (**Figura 2**).

El riesgo (OR) de desarrollar glioblastoma multiforme cuando existe sobreexpresión de p53 es de 4.4 (0.356 – 54.36).

► DISCUSIÓN

Aunque se han probado diferentes abordajes terapéuticos alrededor del mundo para mejorar la supervivencia a largo plazo en pacientes pediátricos con gliomas malignos, ésta no excede 60%. Es bien conocido que tumores histológicamente idénticos tienen diferentes comportamientos biológicos y muestran distintos marcadores biológicos lo que sugiere que estos tumores son un grupo heterogéneo de la misma enfermedad.

El conocimiento de los diferentes mecanismos biológicos implicados en el crecimiento y progresión tumoral alienta hacia un mejor sistema de estratificación. La separación en grupos de riesgo de acuerdo a marcadores moleculares permitirá realización de nuevos protocolos terapéuticos, con intensificación de tratamientos quimio y radioterapéuticos para aquellos pacientes ubicados en el grupo de alto riesgo, permitiendo dar tratamientos menos tóxicos a aquellos pacientes de grupos de bajo riesgo. Adicionalmente, el identificar marcadores moleculares puede conducir al desarrollo de drogas dirigidas, lo que –en combinación con la QT y RT– puede ofrecer a los pacientes con astrocitoma y glioblastoma un mejor pronóstico.¹³⁻¹⁸

La importancia de identificar células de iniciación en tumores cerebrales es que ofrece conocimiento acerca de la fisiopatología en pacientes pediátricos con estas neoplasias; provee una nueva visión o idea de los mecanismos de resistencia de los tejidos cancerosos a los tratamientos actuales e identifica nuevos blancos celulares para el tratamiento.

La sobreexpresión de p53 en gliomas pediátricos malignos ha sido previamente reportada por Pollak y

Tabla 2.

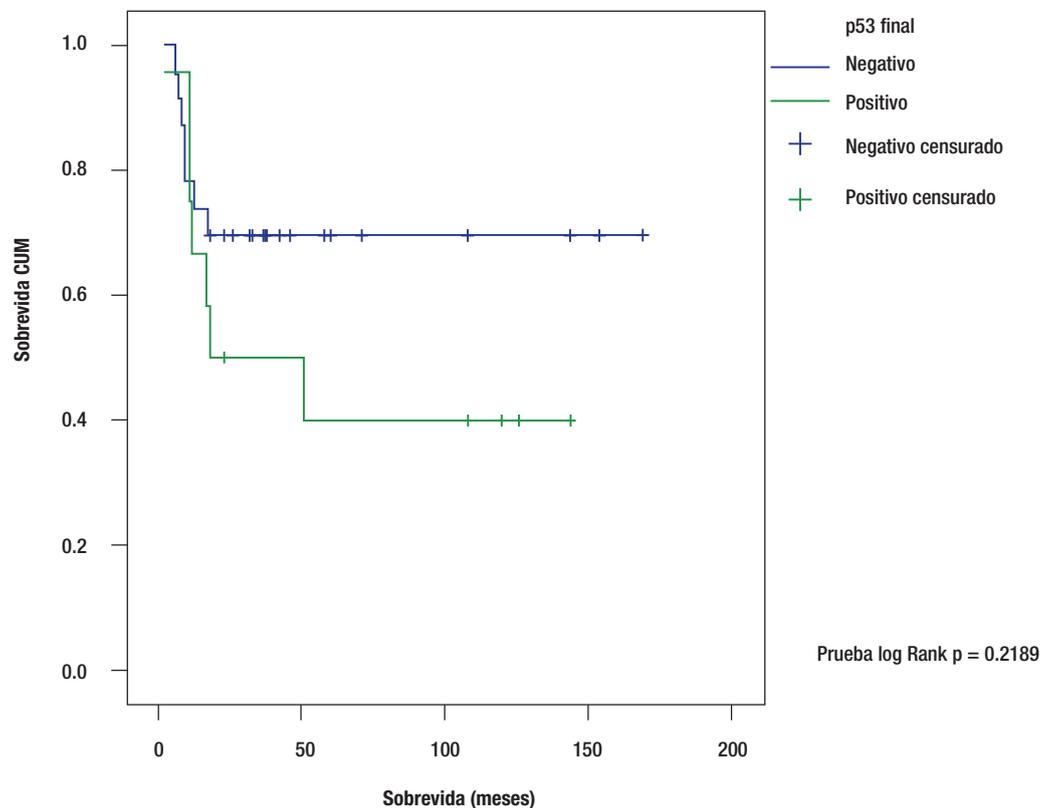
Análisis de regresión múltiple.

	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes no estandarizados	t	Sig.
	B	Error estándar	Beta		
Sexo (Mujer)	.068	.155	.069	.435	.667
Edad (<36 meses)	-.535	.248	-.348	-2.161	.039
Histología (Astrocitoma anaplásico o Glioblastoma Multiforme)	.495	.168	.479	2.947	.006
Localización (Tallo Cerebral)	-.084	.184	-.078	-.457	.651
p53 (Sobreexpresión)	.112	.159	.114	.700	.490

Dependent Variable: Status (deceased)

Figura 2.

Curvas de supervivencia, con base en sobreexpresión p53.



colaboradores y Ganigi PM y colaboradores. Aunque en nuestra serie, la prevalencia de la sobreexpresión de esta proteína fue ligeramente más baja que la reportada por Ganigi, ésta es similar a la reportada por Pollack (34% vs. 53.7% y 35.6% respectivamente), confirmamos que el hallazgo de ambos autores que los pacientes con sobreexpresión de p53 presentan un peor pronóstico (en nuestra serie, 69% en los niños que no expresan p53, están vivos vs. 40% de los que sobreexpresan p53). Nuestro porcentaje de supervivencia es mayor que el reportado por el *Children's Cancer Group* en 2002 (44% y 17% respectivamente) y puede deberse a los diferentes protocolos quimioterapéuticos y de radiación, con una distribución desigual de astrocitomas de bajo grado y glioblastomas malignos en ambas muestras.¹⁹⁻²⁸

En contraste con Pollack y colaboradores, encontramos que los niños por debajo de cuatro años de edad no sobreexpresaron p53 de manera menos frecuente que los mayores de cuatro años (44% vs 30% respectivamente).

De manera similar, edades menores a tres años, continúan como una variable independiente importante, dado que estos niños no pueden recibir RT durante su tratamiento por el riesgo de importante daño neurológico con la radiación en un cerebro en desarrollo.²⁸

La asociación entre sobreexpresión de p53 y la histología tumoral ha sido también previamente identificada; es mucho más frecuente en glioblastomas que en astrocitomas anaplásicos o gliomas mixtos. En nuestra serie, encontramos un riesgo 4.4 veces mayor de tener glioblastoma multiforme si se sobreexpresa p53, aunque estos resultados deben ser tomados con cautela por el pequeño número de muestra.²⁹⁻³⁶

REFERENCIAS

1. Farinotti M, Ferrarini M, Solari A, Filippini G. Incidence and Survival of Childhood CNS tumours in the Region of Lombardy, Italy. *Brain* 1998;121:1429-1436.
2. Franco-Hernández C, Martínez-González V, Rey J.A. Biología molecular de los glioblastomas. *Neurocirugía* 2007;18:373-382

- Rivera LR, López E, Rivera MH, et al. Survival of children under 3 years old with medulloblastoma: a study from the Mexican Cooperative Group for Childhood Malignancies (AMOHP). *Child's Nerv Syst* 2002;18:38-42
- US Mortality Files, National Center for Health Statistics, Centers for Disease Control and Prevention. *Cancer Statistics Review 1975-2006* National Cancer Institute.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol* 2007;114:97-109.
- Prat AR, Galeano SI. Opciones terapéuticas del astrocitoma de bajo grado supratentorial en el adulto. *Arch Neurocienc Mex* 2008;13:35-42.
- Muñoz CD, Faga CC, Márquez G-SM, Gómez MJ. Nuevas perspectivas en el tratamiento paliativo del glioblastoma multiforme y astrocitoma anaplásico recidivado con implantes de carmustina. *Oncología* 2005;28:249-257.
- Harris CC. p53: At the crossroads of molecular carcinogenesis and cancer risk assessment. *Science* 1993;262:1980-1981.
- Hernández FC, Martínez GV, Rey JA. Biología molecular de los glioblastomas. *Neurocirugía* 2007;18:373-382.
- Nozaki M, Tada M, Kobayashi H, et al. Roles of the functional loss of p53 and other genes in astrocytoma tumorigenesis and progresión. *Neuro Oncology* 1999;1:124-137.
- Barr RD, Holowaty EJ, Birch JM. Classification scheme for tumor diagnosed in adolescents and young adults. *Cancer* 2001;106:1425-1430.
- Vogelstein B, Kinzler KW. p53 Function and dysfunction. *Cell* 1992;70:523-526.
- Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, et al. p53 Mutations in human cancers. *Science* 1991; 253:49-53.
- Harris CC, Hollstein M. Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. *N Engl J Med* 1993;329:1318-1327.
- Ständer M, Peraud A, Leroch B, et al. Prognostic impact of TP53 mutation status for adult patients with supratentorial World Health Organization Grade II astrocytoma or oligoastrocytoma. *Cancer* 2004;101:1028-1035.
- Cordon-Cardo C, Dalbagni G, Saez GT, et al. p53 mutations in human bladder cancer: genotypic versus phenotypic pattern. *Int J Cancer* 1994;56:347-353
- Wallace B, Lowe SW. Clinical implications of p53 mutations. *Cell Mol Life Sci* 1999;55:64-75
- Erill N, Colomer A, Verdu M, et al. Genetic and immunophenotype analyses of TP53 in bladder cancer. *Diagn Mol Pathol* 2004;13:217-223.
- Colomer A, Erill N, Montse, et al. Lack of p53 nuclear immunostaining is not indicative of absence of TP53 gene mutations in colorectal adenocarcinomas. *Applied Immunohistochem Mol Morph* 2003;11:130-137.
- Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991;351:453-456.
- Oren M. p53: The ultimate tumor suppressor gene? *FASEB J* 1992;6:3169-3176.
- Fromental CC, Soussi T. TP53 tumor suppressor gene: a model for investigating human mutagenesis. *Genes Chromosom Cancer* 1992;4:1-15.
- Montenarh M. Biochemical properties of the growth suppressor/oncoprotein p53. *Oncogene* 1992;7:1673-1680.
- Rotter V, Prokocimer M. p53 and human malignancies. *Adv Cancer Res* 1991;57: 257-272.
- Wang J, Ouyang W, Li L, et al. Loss of tumor suppressor p53 decreases PTEN expression and enhances signaling pathways leading to activation of activator protein 1 nuclear factor KB induced by UV radiation. *Cancer Res* 2005;65:6601-6611.
- Alarcon D, Vargas R. P53-Mdm2-the affair that never ends. *Carcinogenesis* 2002;23:541-547.
- Cohen ME, Duffner P. *Brain tumors in children*. 2nd edition. Raven Press. 1998
- Pollack IF. *Diagnosis and Therapeutic Stratification of Childhood Brain Tumors: Implications for Translational Research*. *J Child Neurol* 2008;23:1179-1185.
- Rivera LR, López E, Rivera MH, et al. Survival of children under 3 years old with medulloblastoma: a study from the Mexican Cooperative Group for Childhood Malignancies (AMOHP). *Child's Nerv Syst* 2002;18: 38-42.
- López AE, Sepúlveda VA, Rivera MH, et al. Preirradiation ifosfamide, carboplatin an etoposide (ICE) from the treatment of high-grade astrocytomas in children. *Childs Nerv Sys* 2003;19:818-823.
- López EA, Sepúlveda VA, Betanzos CY, et al. Phase II study of metronomic chemotherapy with thalidomide, carboplatin-vincristine-fluvastatin in the treatment of brain item tumors in children. *Arch Med Res* 2008;39:655-662.
- Broniscer A, Gajjar A. Supratentorial High-Grade Astrocytoma and Diffuse Brainstem Glioma : Two Challenges for the Pediatric Oncologist. *Oncologist* 2004;9:197-206.
- Watanabe T, Nakamura M, Kros JM, et al. Phenotype versus genotype correlation in oligodendrogliomas and low-grade diffuse astrocytomas. *Acta Neuropathol* 2002;103:267-275.
- Okamoto Y, Di Patre PL, Burkhard C, et al. Population-based study on incidence, survival rates, and genetic alterations of low-grade diffuse astrocytomas and oligodendrogliomas. *Acta Neuropathol* 2004;108:49-56.
- Nielsen OR, Sorensen M, Carstensen H, et al. Increasing incidence of childhood tumours of the central nervous system in Denmark, 1980-1996. *Br J Cancer* 2006;95:416-422.
- Lanzkowsky Philip. *Manual of Pediatric Hematology and Oncology*. Elsevier 5th Ed. London, UK. 2011.

Sobre expresión de AKT como factor pronóstico en pacientes pediátricos con meduloblastomas

Overexpression of AKT as prognostic factors in medulloblastoma pediatric patients

Enrique López-Aguilar,¹ Ana Carolina Sepúlveda-Vildósola,² Anayatzin Boehler-Reyes,³ Ana Paulina Rioscovián-Soto,¹ Leticia Figueroa-Rosas,¹ José Luis Zarate, Hermilo Yañez-de la Cruz.³

▷ RESUMEN

Introducción: Los factores clínicos, histológicos y moleculares han sido descritos como importantes en la supervivencia de los pacientes con meduloblastoma. El AKT es un marcador asociado al mal pronóstico y al grado de malignidad; sin embargo, en la población pediátrica con meduloblastoma no se ha establecido su patrón de expresión ni su posible asociación con la sobrevida de éstos pacientes.

Objetivo: Determinar si existe asociación entre la sobre expresión de la proteína AKT y el pronóstico de los pacientes pediátricos con meduloblastoma.

Métodos: Se realizó un estudio de cohorte, retrospectivo, observacional, longitudinal. Se incluyeron todos los pacientes diagnosticados con meduloblastoma de enero de 1995 a diciembre de 2008. Se revisaron los expedientes clínicos y se realizó inmunohistoquímica para determinación de AKT en las muestras de tejido de meduloblastoma.

Resultados: Se incluyó a 21 pacientes; hombres 76.2%. La mediana para edad fue de 72 meses con un rango de 12 a 180 meses. Predominó la variedad clásica (10 pacientes), siete fueron desmoplásicos y cuatro anaplásicos. Cinco pacientes sobre expresaron. La sobrevida en quienes sobre expresaron AKT fue 75% a 18 meses. En

▷ ABSTRACT

Background: Clinical, histological and molecular factors have been describes as important in the survival of medulloblastoma patients. AKT is a biological marker associated to bad prognosis and malignancy in adults. In children, it is unknown if its expression is associated to survival.

Objective: To determine if the over-expression for the protein AKT is associated to the prognosis of pediatric patients with medulloblastoma.

Methods: Retrospective cohort. We included all patients diagnosed since January 1995 to December 2008. Clinical data was obtained from each patient's record. AKT was analyzed by immunohistochemistry study of the tissue samples at diagnosis.

Results: We included 21 patients, 76.2% were boys. Median age was 72 months (12-180 months). Classic histology was more frequent (10 patients), 7 were desmoplastic and 4 anaplastic. Five patients over-expressed AKT protein. Survival of these patients was 75%, at 18 months, and those who did not over-express AKT had a survival of 38.8% at 18 months ($p = 0.258$). Anaplastic histology and over-expression of AKT was present in 2 patients; Classic histology and over-expression of AKT was present in 3 patients.

Conclusions: Although we did not find a significant association between survival and over-expression of AKT, those patients who over-expressed the protein had a 50% less survival. There

1Departamento de Oncología Pediátrica UMAE Centro Médico Nacional Siglo XXI.

2Directora de Educación e Investigación en Salud UMAE Centro Médico Nacional Siglo XXI.

3 Departamento de Pediatría UMAE Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Correspondencia: Dr. J. Enrique López Aguilar. Av. Cuauhtémoc No. 330 Col. Doctores, 06720. Teléfono: 5627 6900, extensión 22528. Correo electrónico: elopezaguilar@hotmail.com

contraste, los pacientes que no sobre expresaron AKT, 38.8% tuvieron una sobrevida de a 18 meses ($p = 0.258$). De la variedad anaplásica dos (50%) fueron positivos para AKT y los otros tres correspondieron a histologías clásicas. Ningún paciente con tumor desmoplásico sobre expresó AKT.

Conclusiones: A pesar de no encontrar una asociación estadísticamente significativa entre la sobrevida y la sobre expresión de AKT, aquellos que no sobre expresaron dicha proteína tuvieron una sobrevida 50% menor. Parece existir una asociación entre la sobre expresión de AKT con variedades histológicas más agresivas. Se requiere ampliar el tamaño de muestra para confirmar dichos resultados.

Palabras clave: AKT, meduloblastomas, cáncer pediátrico, México.

seems to be an association between the over-expression of AKT and more aggressive histology. A larger sample of patients is required to obtain solid conclusions.

Keywords: AKT, medulloblastoma, pediatric cancer, Mexico.

▷ INTRODUCCIÓN

El cáncer en los niños en México es en la actualidad uno de los problemas más importantes de salud pública, la tasa de incidencia del cáncer en edad pediátrica es del orden de 136 casos por millón por año, con lo que ocupa el segundo lugar como causa de morbilidad, en la población pediátrica. En México los tumores del sistema nervioso central ocupan el tercer lugar de las neoplasias malignas en niños. Se estima que anualmente ocurren 17 casos por millón en menores de 15 años, lo que significa aproximadamente 560 nuevos casos por año.¹

El meduloblastoma ocupa el segundo lugar en frecuencia y por lo general tiene un comportamiento muy agresivo. Se dividen en alto y bajo riesgo. La histogénesis de este tumor ha sido controversial, por un lado, algunos apoyan el origen primario de las células neuroectodérmicas primitivas en la matriz germinal que rodea los ventrículo, mientras que otros estudios sugieren que éste tumor se origina de las células precursoras de la capa granular externa, específicamente para la variedad nodular, que se origina de la capa granular externa y la variedad clásica, cuyo origen es en la matriz subventricular. La media de presentación de estos tumores es de cinco a siete años.²

Con base en su morfología histológica, existen cinco tipos: 1. Meduloblastoma Desmoplásico-nodular; 2. Meduloblastoma clásico; 3. Meduloblastoma

anaplásico; 4. Meduloblastoma melanocítico y; 5. Medulomioblastomas.³

Tradicionalmente los factores asociados a mal pronóstico para los meduloblastomas son: edad al diagnóstico menor de tres años, tamaño o volumen del tumor residual; por su histología, se refiere a la variedad anaplásica. De acuerdo a ello, el *North American Children's Oncology Group* estableció dos grupos de riesgo (alto y bajo). El tipo de tratamiento se correlaciona con la determinación del grupo de riesgo del paciente.

Más recientemente se han estudiado algunos marcadores moleculares que correlacionan con el pronóstico y respuesta al tratamiento. Se ha asociado con un mal pronóstico la sobre expresión de Ki-67/MIB-1, ERBB2,⁴ pérdida de la heterocigocidad de 17p, amplificación de MYCC, LDHB, y CCNB1;⁵ en cuanto a un pronóstico favorable se refiere sobre expresión de TrkC.⁶

En 1988 Staal y colaboradores identificaron el gen AKT1 en el cromosoma 14q32.3 mediante el análisis de células somáticas de híbrido humano y hámster. Tiene 15 exones de codificación de 480 aminoácidos ácidos.⁷ En las células en reposo, el AKT reside en el citosol en una conformación de baja actividad. Durante la estimulación celular, AKT se activa a través del reclutamiento en la membrana celular de los productos de PI3K y por la fosforilación del 3'-fosfoinositol- dependiente de quinasa -1 (PDPK1). La activación de AKT controla la supervivencia

celular a través de la fosforilación de las dianas que dependen de ella, con el resultado del incremento en la supervivencia celular, proliferación, crecimiento y metabolismo. El AKT fosforila específicamente dos proteínas apoptóticas, BAD y caspasa 9.⁸

La activación de AKT se ha implicado en la instrucción primaria en cánceres de sistema nervioso central humano. El grado de malignidad tumoral en el glioma correlaciona con la actividad de AKT y activación de los puntos de señalización de AKT hacia una mala evolución clínica. En cuanto al meduloblastoma, ensayos en ratón han revelado que la proliferación de células tumorales depende crucialmente en la activación de la vía PI3K/AKT, lo cual se refuerza cuando existen mutaciones de PIK3CA en la subunidad p110 de PI3K, tanto en el glioblastoma como en el meduloblastoma.^{9,10}

En la actualidad y en nuestro medio, la estadificación del riesgo en pacientes con meduloblastoma sigue siendo un reto, debido a que los parámetros clínicos son insuficientes para definir el riesgo. Hoy en día los marcadores moleculares son estudiados con interés a partir de que se ha demostrado que proveen información pronóstica, poco se ha estudiado acerca del papel que juega la sobre expresión del AKT en el pronóstico del meduloblastoma en la edad pediátrica. El objetivo del presente trabajo fue determinar si existe asociación entre la sobre expresión de la proteína AKT en el pronóstico de los pacientes pediátricos con meduloblastoma.

▷ MÉTODOS

Se incluyeron las muestras de parafina de todos los pacientes con diagnóstico de certeza de meduloblastoma, vírgenes a tratamiento, de cualquier sexo y menores de 17 años, manejados en la UMAE Hospital de Pediatría desde el 01 de enero de 1995 al 31 de diciembre de 2008, con seguimiento mínimo de seis meses a partir del diagnóstico. Se capturaron del expediente los siguientes datos: edad, sexo, localización del tumor, histología del tumor, fecha de diagnóstico, fecha de defunción y tipo de tratamiento recibido. Los pacientes diagnosticados antes de 1998 recibieron manejo con doble droga (carboplatino/VP16), y los pacientes manejados posteriormente recibieron triple esquema (ICE). Posteriormente todos los pacientes mayores de tres años recibieron radioterapia (54 cGy). Tres de los pacientes menores de tres años recibieron radioterapia al cumplir dicha edad.

Las muestras almacenadas en bloques de parafina se realizaron cortes de tres micras de espesor, se desparafinaron mediante baño maría y rehidratación mediante xilol y alcoholes graduados, absoluto, a 70% y 50%, se lavaron las laminillas con agua bidestilada por 30 segundos

así como con TBS (1:20, TBS Automation Wash buffer, Biocare Medical), y finalmente se lavaron con agua bidestilada por otros 30 segundos.

Posteriormente se realizó la recuperación de epítipes, mediante el proceso de *desenmascaramiento de epítipes*, con una solución comercial de citrato de sodio DIVA (1:10, Diva Decloaker, Biocare Medical) en una olla de presión a 125°C de temperatura. Se permitió el enfriamiento a medio ambiente de las muestras y se lavaron con agua bidestilada por 30 segundos.

Se lavaron dos veces las muestras con TBS, permitiendo una incubación a 25°C por 10 minutos. Se lavó nuevamente con TBS y se aplicó el anticuerpo primario monoclonal de conejo (1:200, AKT phosphorylated, Biocare Medical) incubándolos por una hora a 25°C. Se lavaron con TBS. Se agregó finalmente el anticuerpo secundario (Probe, Biocare Medical) el cual se incubó por 15 minutos a 25°C. Se añadió HRP, peroxidasa de rábano (MACH 1 Universal HRP-Polymer Detection) por 30 minutos a 25°C, y posteriormente se reveló con cromógeno DAB (3,3D-aminobencidina, BIOCARE MEDICAL, DAB CHROMOGEN KIT, REF DB801L) incubando por cinco minutos. Finalmente se realizó contratinción con hematoxilina por cinco minutos. Una vez finalizada la inmunohistoquímica se deshidrató el tejido lavándolo durante tres minutos en cada solución con agua bidestilada, alcohol al 50%, 70%, alcohol absoluto y xileno. Finalizamos con el montaje de cada laminilla para observar al microscopio.

Se incluyó un control positivo conocido, para AKT, en nuestro caso cerebelo fetal para evaluar la técnica y la calidad del tejido post-fijado que se sometió a toda la metodología.

Se determinó la reacción en microscopio de luz y se tomaron fotografías, se consideró como sobre expresión cuando más de 50% de cada uno de los campos evaluados mostraron inmuno reactividad positiva.

Para que el médico patólogo determinara el porcentaje de positividad revisó 10 campos de alta resolución, y contó las células tumorales observadas por campo y de éstas, el número de células positivas; de esta manera se estableció el porcentaje de positividad. El patólogo fue *cegado* sobre la evolución de los pacientes.

▷ RESULTADOS

Veintinueve pacientes fueron incluidos en el estudio. Los hombres representaron dos tercios (16 pacientes) y cinco mujeres, con una relación hombre:mujer de 3.2:1. La mediana de edad al momento del diagnóstico fue de 72 meses, con un rango de 12 a 180 meses. Sólo cuatro (19.04%) pacientes fueron menores de 36 meses de edad.

Por su variedad histológica 10 pacientes (47.6%) tuvieron histología clásica, siete (33.33%) fueron desmoplásicos y cuatro (19.04%) anaplásicos. Seis pacientes tuvieron una resección total de la tumoración. Trece pacientes (62%) recibieron manejo con esquema de quimioterapia ICE (Ifosfamida, carboplatino y etopósido) y ocho pacientes con carboplatino/VP16. Posteriormente recibieron radioterapia 20 pacientes. Cinco (23.8%) pacientes, sobre expresaron AKT (**Figura 1**).

Doce pacientes (57.1%) están vivos. La supervivencia global fue de 75% a los 18 meses; la mediana de supervivencia de todo el grupo fue de 49.52 meses (2 a 172 meses). Nueve pacientes han fallecido (42.9%). De éstos, una niña y ocho niños ($p = 0.258$; IC 95% 0.065-2.46), lo que determina un riesgo (OR) de morir por ser hombre de 4:1. La supervivencia de las mujeres es de 80% a 170 meses, mientras que la de los varones fue de 22.89 en el mismo periodo ($p = 0.1555$).

Con respecto a la edad, no se encontraron diferencias ya que 50% de los pacientes menores de 36 meses sobreviven, en comparación con 46.61% (10 pacientes) de aquellos mayores de 36 meses ($p = 0.586$); OR 1.214 (IC 95% 0.391 - 3.769).

Con respecto al tipo histológico, los pacientes con tumor desmoplásico sobrevivieron 45.71% con una mediana de 66 meses, mientras que en el grupo de pacientes con variedad clásica la supervivencia fue 32% con una mediana de 29 meses. Por último, en el grupo de histología anaplásica la supervivencia fue de 75% con una media de 130.

El tipo de quimioterapia recibida afecta, aunque no significativamente, la supervivencia, siendo de 17.5% a 170 meses en quienes recibieron carboplatino/VP16 y de 67.31% a 172 meses en aquellos que recibieron esquema de ICE ($p = 0.2538$).

De acuerdo con la sobre expresión de AKT, la supervivencia fue de 75% a 97 meses en pacientes que sobre expresaron AKT, contra un 38.8% a 172 meses en quienes tuvieron AKT negativo: $p = 0.2501$; OR 0.40; IC 95% 0.65 - 2.469 (**Figura 2**).

No hubo asociación entre el sexo, la edad, la histología ni la quimioterapia con la sobre expresión de AKT. Sin embargo, cabe destacar que 66% de las niñas sobre expresaron AKT *vs.* 23% de los varones. De los tumores con variedad clásica y anaplásica respectivamente, 42% y 50% sobre expresaron AKT *vs.* ninguno de la variedad desmoplásica (**Tabla 1**).

► DISCUSIÓN

El conocimiento de los diferentes mecanismos biológicos implicados en el crecimiento y progresión tumoral alienta hacia un mejor sistema de estratificación. El identificar

Figura 1.

Microfotografía de estudio de inmunohistoquímica con la evidencia de identificación de AKT positivo en citoplasma (flecha) de células neoplásicas de meduloblastoma anaplásico (40 aumentos).

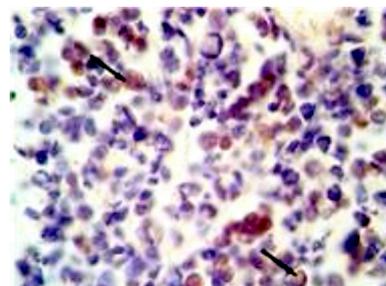
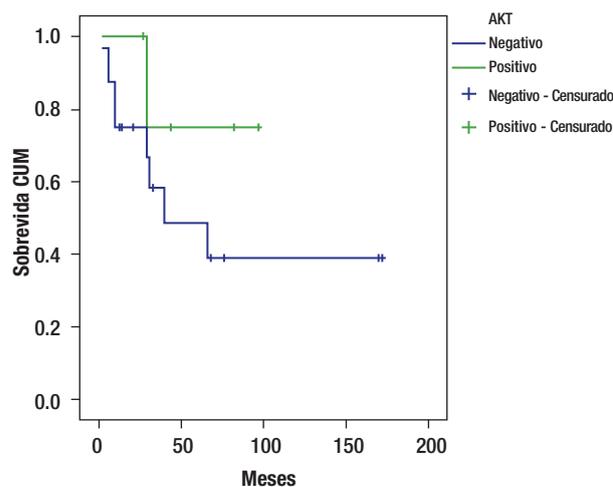


Figura 2.

Sobrevida de acuerdo a la sobre expresión de AKT



marcadores moleculares puede conducir al desarrollo de drogas dirigidas, ajustando el tratamiento de acuerdo al nuevo portafolio de biomarcadores moleculares, ofreciendo a los pacientes un mejor pronóstico. Los parámetros clínicos (metástasis, tumor residual y edad) generalmente usados para estratificación de riesgo, no son completamente satisfactorios en predecir la respuesta a la terapia. Uno de los objetivos del presente estudio fue evidenciar al AKT como un oncogén para complementar la estratificación de riesgo en los meduloblastomas. Basados en la experiencia reportada en la literatura internacional de AKT, podemos afirmar que el AKT está implicado tanto en vías de diferenciación celular de linfomas, como tumores de SNC tipo meduloblastoma para proliferación celular y antiapoptótico, el cual es un oncogén

Tabla 1.

Asociación entre las variables demográficas, histológicas y de tratamiento con la sobre expresión de AKT.

	AKT		OR	IC 95%	Ji cuadrada o Prueba Exacta de Fisher
	Positivo	Negativo			p
Sexo					
Femenino	2	3	0.40	0.065-2.469	0.258
Masculino	3	13			
Edad					
Menor de 36 meses	1	3	1.214	0.391-3.769	0.586
Mayor o igual a 36 meses	4	13			
Histología*					
Desmoplásico	0	7	1.556	1.053-2.299	0.141
Clásico	3	7			
Anaplásico	2	2			
Quimioterapia					
ICE	3	10	0.49	0.185-1.307	0.166
Carboplatino/ VP16	2	6			
Estado actual					
Vivo	4	8	0.40	0.065-2.469	0.258
Defunción	1	8			

*Desmoplásico vs. clásico y anaplásico

que si se sobre expresa, hay mayor proliferación celular, lo anterior coincide con lo reportado en su estudio por Hartmann W y colaboradores⁹ que al analizar 22 muestras de meduloblastoma observaron que la proliferación celular dependió de la presencia de AKT.

Llama la atención que nuestros hallazgos son contrarios a esta observación; de hecho, sobre expresar AKT pareciera asociarse a factor protector, encontrando una sobrevida de 75% en aquellos que sobre expresan AKT contra 38.8% de los que no lo expresaron. Estos hallazgos pueden estar determinados por el tamaño de muestra pequeño, en especial en el primer grupo.

La presentación desmoplásica del tumor, que conlleva un mejor pronóstico en general, no sobre expresó AKT en nuestra serie. En contraste, la expresión de AKT se identificó en variedad histológica más agresiva en 42.85% de tipo clásico y un 50% de tipo anaplásico, siendo este último el de peor pronóstico. Aunque ésta asociación no resultó significativa, si se puede observar una tendencia de mayor sobre expresión en aquellos tumores con histologías más desfavorables. Wtodarski P y colaboradores¹¹ encontraron

que ocho de 10 tumores evaluados sobre expresaron AKT mediante western blot, siete de los cuales fueron de histología clásica y uno desmoplásico.

Respecto a nuestro porcentaje de sobrevida, 57.1% de los pacientes incluidos en nuestro estudio se encuentran vivos; en los estudios realizados por Crawford JR y colaboradores¹² y Raimondi AJ y colaboradores¹³ refieren una sobrevida similar, donde los pacientes que tienen una resección parcial o total del meduloblastoma no metastásico tienen un mejor pronóstico que los de biopsia, seguidos de radioterapia donde la sobrevida a cinco años es de 78% contra 43%.

En cuanto a la edad de diagnóstico de meduloblastoma, la sobrevida en mayores de 36 meses fue de 46.51%, considerablemente menor con lo reportado por Rossi A y colaboradores,¹⁴ donde informan una sobrevida en este mismo grupo de edad de hasta 70% combinado con quimioterapia y radioterapia. Creemos que esto está dado por el diagnóstico tardío de estos tumores, y que en muchas ocasiones tienen involucro de tallo o diseminación a neuroeje al diagnóstico.

El objetivo general del presente estudio fue encontrar una asociación de mayor riesgo en aquellos pacientes con meduloblastoma que expresan AKT y a pesar de no encontrar dicha asociación, hay que considerar que el tamaño de muestra fue pequeño y que sí pareciera existir una asociación entre la sobre expresión de AKT con sus variedades histológicas más agresivas y la asociación de meduloblastoma desmoplásico, al no sobre expresar AKT es de buen pronóstico.

Por lo que consideramos es importante dar seguimiento al estudio hasta tener conclusiones más sólidas y para dar pie a estudios posteriores de terapias moleculares dirigidas.

REFERENCIAS

1. Fajardo-Gutiérrez A. Mortalidad por cáncer en niños. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2005;62:1-3.
2. Rivera-Luna R, Niembro A, Zarco A, et al. Meduloblastoma en pediatría. Pronóstico y tratamiento en la actualidad. *Gac Med Méx* 2007; 143:415-420.
3. Crawford JR, Ohgaki H, Wiestler O, et al. The 2007 WHO Classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007;114:97-109.
4. Gilbertson R, Wickramasinghe C, Heman R, et al. Clinical and molecular stratification of disease risk in meduloblastoma. *Br J Cancer* 2001;85:705-12.
5. de Haas T, Hasselt N, Troost D, et al. Molecular risk stratification of meduloblastoma patients based on immunohistochemical analysis of MYC, LDHB, and CCNB1 expression. *Clin Cancer Res* 2008;14):4154-60.
6. Grotzer MA, von Hoff K, von Bueren AO, et al. Which clinical and biological tumor markers proved predictive in the prospective multicenter trial HIT'91--implications for investigating childhood meduloblastoma. *Klin Padiatr* 2007;219:312-7.
7. Staal, S. Molecular cloning of the AKT oncogene and its human homologues AKT1 and AKT2: amplification of AKT1 in a primary human gastric adenocarcinoma. *Proc Nat Acad Sci* 1987;84:5034-5037.
8. Vasko V, Saji M, Hardy E, et al. AKT activation and localization correlate with tumour invasion and oncogene expression in thyroid cancer. *J Med Genet* 2004;41:161-170.
9. Hartmann W, Dignon-Söntgerath B, Koch A, et al. Phosphatidylinositol 3'-kinase/AKT signaling is activated in meduloblastoma cell proliferation and is associated with reduced expression of PTEN. *Clin Cancer Res* 2006;12:3019-3027.
10. Broderick D, Di C, Parrett T, et al. Mutations of PIK3CA in anaplastic oligodendrogliomas, high-grade astrocytomas, and meduloblastomas. *Cancer Res* 2004;64:5048-5050.
11. Wtodarski P, Grajkowska W, Lojek M, Rainko K, Józwiak J. Activation of AKT and Erk pathways in meduloblastoma. *Neuropathol* 2006;44:214-220.
12. Crawford JR, MacDonald T, Packer RJ. Meduloblastoma in childhood: new biological advances. *Lancet Neurology* 2007;6:1073-85.
13. Raimondi AJ, Tomita, T. Meduloblastoma in childhood. *Acta Neurochir* 1979;50:127.
14. Rossi A, Caracciolo V, Russo G, Reiss K, Giordano A. Meduloblastoma: From molecular pathology to therapy. *Clin Cancer Res* 2008;14:971-976.

Correlación de la expresión de la apoptosis, con la respuesta a tratamiento y sobrevida en niños con astrocitoma

Apoptosis correlation with treatment response and survival in pediatric astrocytomas

Enrique López-Aguilar,¹ Graciela Gascón-Lastiri,² Ana Carolina Sepúlveda-Vildósola,³ Carolina Barrientos,⁴ Griselda Ramírez,⁵ Hermilo De la Cruz-Yáñez.⁶

▷ RESUMEN

Introducción: Los astrocitomas son los tumores cerebrales más frecuentes en la edad pediátrica, y su pronóstico depende de múltiples factores como son: la estirpe histológica, localización, edad de presentación y el grado de resección quirúrgica. Con el advenimiento de la biología molecular, se han encontrado factores pronósticos genéticos. La apoptosis, que es la muerte celular programada, por lo general se encuentra subexpresada en los tumores malignos, permitiendo la replicación sin medida de la célula tumoral.

Objetivo: Determinar si existe correlación entre la expresión de la apoptosis, con la respuesta a tratamiento y sobrevida en niños con astrocitoma.

Métodos: Cohorte retrospectiva. Se revisaron los expedientes clínicos y radiológicos de todos los pacientes con astrocitoma y se obtuvo muestra del tejido tumoral del banco de tumores del sistema nervioso central; se determinó el grado de expresión de la apoptosis. Análisis estadístico: Epidemiología descriptiva

▷ ABSTRACT

Background: Astrocytomas are the most common brain tumor in children. There are many prognostic factors in these patients included histology, location, neurosurgery resection and treatment received. However new molecular markers are important in the survival. Apoptosis alteration could be related to survival in this group of patients. Intrinsic and extrinsic pathways were studied.

Methods: Ten subsequent patients with astrocytoma were included. All patients were typified clinical characteristics, histological subtype, neurosurgery procedure and gene related to apoptosis included intrinsic and extrinsic pathway.

Results: Ten patients were included, six male and four female (M:F 1.5:1), the age average 7.8 years. Location four patients supratentorial, four patients brain tumor and two located in cerebellum: Histological subtype low grade astrocytoma in seven patients, two multiform glioblastoma and one patient anaplastic astrocytoma. All patients presented intrinsic or extrinsic pathway alteration; most common alteration were observed on the caspases pathway

1Jefe de Servicio, UMAE Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI, IMSS.

2Servicio de Oncología, Hospital General de Celaya, Gto.

3Dirección de Investigación

4Unidad de Investigación en Genética

5Servicio de Neurocirugía

6Dirección General

UMAE Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI, IMSS.

Correspondencia: Dr. Enrique López Aguilar. Laboratorio de Investigación en Tumores Cerebrales. Av. Cuauhtémoc 330. Colonia Doctores, México, D. F. Teléfono: 5627 6900, extensión 22528. Correo electrónico: elopezaguilar@hotmail.com

Resultados: De los 10 pacientes estudiados, siete correspondieron a histología de bajo grado, un astrocitoma anaplásico y dos glioblastoma multiforme. Por localización: cuatro fueron supratentoriales, dos en cerebelo y cuatro en tallo cerebral. Todos presentaron una alteración en la vía de la apoptosis ya sea en la vía extrínseca o en la intrínseca, siendo más común la expresión del gen TRAIL para la primera, y una alteración en la vía de las caspasas para la segunda presentándose en seis pacientes.

Discusión: No encontramos una vía o un gen que estuviera persistentemente alterado; sin embargo, encontramos como alteración más común en éstos pacientes la vía intrínseca regulada por las caspasas. Este estudio es importante por que es el primero que integra alteraciones genéticas con la clínica y la histopatología.

Palabras clave: Apoptosis, astrocitoma, niños, México.

Discussion: *We are not found a constant gene alteration, because both pathways were altered in intrinsic or extrinsic pathway. This is the first reports which integrate gene apoptosis expression and clinical follow up.*

Keyword: *Apoptosis, astrocytoma, children, Mexico.*

▷ INTRODUCCIÓN

Los tumores cerebrales representan el tumor sólido más frecuente en la edad pediátrica, siendo los astrocitomas los más comunes.¹ A nivel mundial representan 60% y son más frecuentes en el sexo masculino, la raza blanca y en menores de cinco años.² En estudios realizados en población del D. F, la incidencia es de 17 casos por millón por año. La frecuencia de presentación de los tumores cerebrales es de 12%.³

Los estudios publicados sobre factores pronósticos en pacientes con gliomas, se basan en estudios clínicos y de población, como el de Ohgaki y Kleihues.⁴

La apoptosis o muerte celular programada, es una forma de suicidio celular genéticamente definida, que ocurre de manera fisiológica durante la morfogénesis, la renovación tisular y en la regulación del sistema inmunitario. Se considera que la apoptosis es un mecanismo fisiológico de muerte que se desencadena por diversas señales, las cuales pueden ser fisiológicas o estímulos exógenos ambientales. Las vías de señalización de la apoptosis son dos: la intrínseca y la extrínseca. La vía intrínseca (mitocondrial) se desarrolla cuando la célula está expuesta a un gran estrés como ocurre cuando se daña la cadena de DNA; la vía extrínseca (citoplasmática) es activada cuando algún ligando pro-apoptótico como Apo2L/TRAIL (de la familia de los Factores de Necrosis

Tumoral) se une a un receptor pro-apoptótico como el DR4 y DR5.⁵ Tanto la vía intrínseca como la extrínseca convergen en la activación de enzimas intracelulares denominadas caspasas, quienes finalmente llevan a la destrucción de las proteínas celulares y con esto la muerte de la célula.^{6,7} El entendimiento de la apoptosis ha sentado las bases de nuevas terapias que pueden inducir la muerte de las células cancerosas o sensibilizarlas contra los agentes citotóxicos y la radioterapia.⁸ Estos nuevos agentes incluyen aquellos para la vía extrínseca como el ligando del receptor uno del factor de necrosis tumoral y aquellos de la vía intrínseca como los de la familia BCL-2 como oligonucleótidos antisentido.⁹ El fracaso en la inducción de la apoptosis constituye una de las principales causas de la resistencia a la quimioterapia en los tumores malignos.¹⁰ Dado que determinados hechos celulares pueden ser explicados por trastornos en la regulación de los genes responsables de la apoptosis, como es el caso de la transformación y progresión tumorales,¹¹ se postula que debe existir una relación entre la subexpresión en las vías de la apoptosis y la presencia de alteraciones cromosómicas.¹²⁻²⁵

El objetivo del presente trabajo fue determinar si existe correlación entre la expresión de la apoptosis con la respuesta al tratamiento y sobrevida en niños con astrocitoma.

▷ MÉTODOS

El presente estudio se realizó en la UMAE Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI. De manera subsecuente, se incluyó a 10 pacientes con diagnóstico de astrocitoma confirmado por el servicio de Patología. Se recolectaron los datos clínicos así como de imagen y se estudiaron tanto las vías intrínsecas como extrínsecas de la apoptosis.

Para la determinación de las vías de la apoptosis se realizó el siguiente procedimiento:

Extracción de RNA total: A partir del tejido tumoral extraído, inmediatamente después de la resección, se llevó a cabo la extracción de RNA total, siguiendo el protocolo de Chomczynski y colaboradores (1987) modificado, mediante TRIzol Reagent (Invitrogen) de la siguiente manera:

Se pesó y homogenizó el tejido manteniéndolo siempre dentro de nitrógeno líquido; después se adicionaron 700 mL de TRIzol, agitándose y dejándose cinco minutos a temperatura ambiente. Se añadieron 40 mL de cloroformo, se agitó durante 15 segundos y se dejó reposar cinco minutos a temperatura ambiente. Se centrifugó nuevamente durante 15 minutos a 13 000 rpm a 4°C. Se recuperó la fase acuosa y se adicionó isopropanol en relación 1:1; después se llevó a cabo una tercera centrifugación de cinco minutos a 7500 rpm a 4°C. Se decantó el isopropanol y se lavó la pastilla con etanol al 70%; esta pastilla se centrifugó durante 10 minutos a 7500 rpm a 4°C, se decantó el etanol y se secó la pastilla a temperatura ambiente, para finalmente hidratarla con 30-50 ml de H₂O DEPC.

Cuantificación de RNA: El análisis cualitativo del RNA total en las muestras procesadas, se llevó a cabo mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%, revelado con bromuro de etidio y luz UV.

La cuantificación se llevó a cabo en un espectrofotómetro (Eppendorf Biophotometer), calibrado a una longitud de onda de ultravioleta a 260 nm;

Para llevar a cabo PCR de cada uno de los genes seleccionados, se utilizaron los iniciadores diseñados para este estudio. Para dicho diseño, se realizó una búsqueda de la secuencia de RNAm correspondiente a cada uno de los transcritos en la base de datos *Entrez nucleotide* del NCBI, posteriormente se utilizó el programa OLIGO, copiando las secuencias encontradas, donde se comenzó a buscar una región polimórfica, que presentara menos de 40% de CG, ya que un contenido mayor eleva la TM (temperatura en que se alinean); ubicando la posición donde la G sea más negativa ya que esto le confiere

mayor estabilidad, flanqueándola con dos secuencias complementarias en los extremos 5´-3´. Se analizaron la formación de dímeros y la auto complementariedad (plegamiento), la longitud del fragmento obtenido y finalmente se calculó el porcentaje de compatibilidad de los iniciadores u oligonucleótidos. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para cada gen se realizó con los respectivos programas de amplificación, partiendo del siguiente programa estándar: desnaturalización a 95°C, durante 10 minutos, seguido por 40 ciclos de 95°C por 20 segundos, a 54°C por 20 segundos 72°C por 30 segundos con una extensión final a 72°C por cinco minutos.

Identificación de proteínas relacionadas con apoptosis y proliferación celular mediante Inmunohistoquímica: Se tomaron secciones de tejido tumoral de aproximadamente 1cm³ de diferentes sitios. Las muestras se colocaron en frascos con formol al 10% en solución amortiguadora de fosfatos para su fijación, por un periodo no mayor de 48 horas. Una vez fijadas, las muestras se procesaron mediante técnicas rutinarias de histopatología, se incluyeron en parafina y se cortaron en micrótomos a cuatro micrómetros. Los cortes se tiñeron con Hematoxilina-Eosina. El examen histológico se llevó a cabo mediante microscopía óptica.

Como anticuerpo primario se aplicaron los anticuerpos supervivina (monoclonal de ratón), caspasa ocho (policlonal de conejo) de Novus Biological (USA) y Ki-67 (monoclonal de ratón), BCL-xL (policlonal de conejo), TRAIL (policlonal de conejo), PCNA (monoclonal de conejo) y fosfo p53-Thr81 (policlonal de ratón) de Cell Signaling (USA).

La evaluación se hizo usando microscopía óptica.

Como controles positivos se usaron inicialmente cortes de astrocitomas positivos a Ki-67 y como control negativo, cortes sin anticuerpo primario.

Se establecieron las mejores condiciones de procesamiento del protocolo modificado para determinar la dilución del anticuerpo primario más alta que permitiera la detección adecuada de cada una de las proteínas en los cortes de tejidos tumorales de controles.

Igualmente se realizó técnica de microarreglos para la determinación de genes alterados tanto de la vía intrínseca como la extrínseca de la apoptosis

Análisis estadístico: De acuerdo con la escala de medición de las variables se realizó estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión.

▷ RESULTADOS

En el presente trabajo, se incluyó a un total de 10 pacientes portadores de astrocitoma diagnosticados en el servicio de

Tabla 1.

Características de los pacientes

Sexo	Edad	Localización	Histología	Sobrevida	Apoptosis Sobre-Ex	Apoptosis Sub-Ex	Estado Actual
M	14	SUPRA	GM	1 mes	Fabp7,sema5a, ptpnz1,VEGF,thbs1	Bcl-2, IAP,cyt-c,ikbox	Muerto
M	3	INFRA	ABG	2 meses	Olig1,serpina3, camk2A, timp1	Casp3,TrkA, foxg1b,mapk1, ccna1	Muerto
M	7	SUPRA	ABG	20 meses	Igfbp4,s100A4,mbp1,tgfb1, BID,CASP-8	IRAK-4,PKA	Muerto
F	13	SUPRA	GM	3 meses	Fabp7,ptprz1,bcan,YBOX1, CD63,arhe, VEGF,pine1, AKT, bcl2,PKa,IAP,cytC,ikBOX, thds1, top2a	IRAK4,p13k	Muerto
M	9	TALLO	AA	13 meses	EGFR, AKT, igfvp2, Ki67, pbna,	PKA, CASP3	Muerto
M	14	TALLO	ABG	24 meses	Prkcb1,timp1,mcl1, BCL2,PKa,ikBOX,CN,RIP1, CASP3	Ccna1, spint2, mapk1, IRAK4, PKA, FLIP, TRAIL	Vivo
M	6	TALLO	ABG	14 meses	Bmp2, ntrk2, dff45, CASP10, AKT, PKB, CALPAIN-A, TRADO, kik endog,	IRAK4, PKA, TRAIL, CALPAIN-A	Muerto
F	4	INFRA	ABG	19 meses	AF007150, AF079529, PKA, CYTC, TRK-A, interleucin1	Afo17986, tgfb2, IRAK4,TRAIL, CASP8	Vivo
F	4	TALLO	ABG	2 meses	BCL2,PKA,APAF-1,FLID,IL-1,IRAK2	JNK3A2	Vivo
F	4	SUPRA	ABG	18 meses	DES,CASP3,Trk-A,	IRAK4,PKA,CALPAIN-A,CASP8,TNF	Vivo

Patología del Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI del IMSS. De los 10 pacientes estudiados, en todos fue posible determinar las vías de la apoptosis, al contar con muestra suficiente para la extracción del RNA. La media de edad fue de 7.8 años con un rango de tres a 14 años. La relación hombre:mujer fue de 1.5:1, seis hombres y cuatro mujeres (**Tabla 1**).

Por histología: siete fueron astrocitomas de bajo grado, uno fue astrocitoma anaplásico y dos glioblastomas multiformes.

Por localización: cuatro fueron supratentoriales, dos de cerebelo y cuatro de tallo. De los supratentoriales uno fue en tálamo, uno intraventricular, uno temporoparietal y uno parietal.

De los 10 pacientes incluidos, seis fallecieron y cuatro están vivos.

En todos los pacientes se encontró alteración en alguna vía de la apoptosis, ya sea en la vía intrínseca como extrínseca.

Llamó la atención que en seis de los 10 estudiados, existió una alteración en las caspasas ya sea que estuvieran subexpresadas o sobre expresadas (**Figura 1**).

PACIENTE – 1 CGLJ

Hombre de 14 años de edad: se diagnosticó en octubre de 2008, con un glioblastoma multiforme intraventricular; se realizó resección parcial y recibió un ciclo de Quimioterapia (QT) con Ifosfamida, Carboplatino y Etoposido (ICE).

Falleció en noviembre de 2008 por progresión tumoral (**Figuras 2 y 3**).

PACIENTE – 2 VHI

Hombre de tres años de edad; se diagnosticó en agosto de 2007 con un astrocitoma de bajo grado de cerebelo, se realizó resección completa y se envió a Radioterapia, sin embargo fallece en octubre de 2007, por sangrado de tubo digestivo.

PACIENTE – 3 MPG

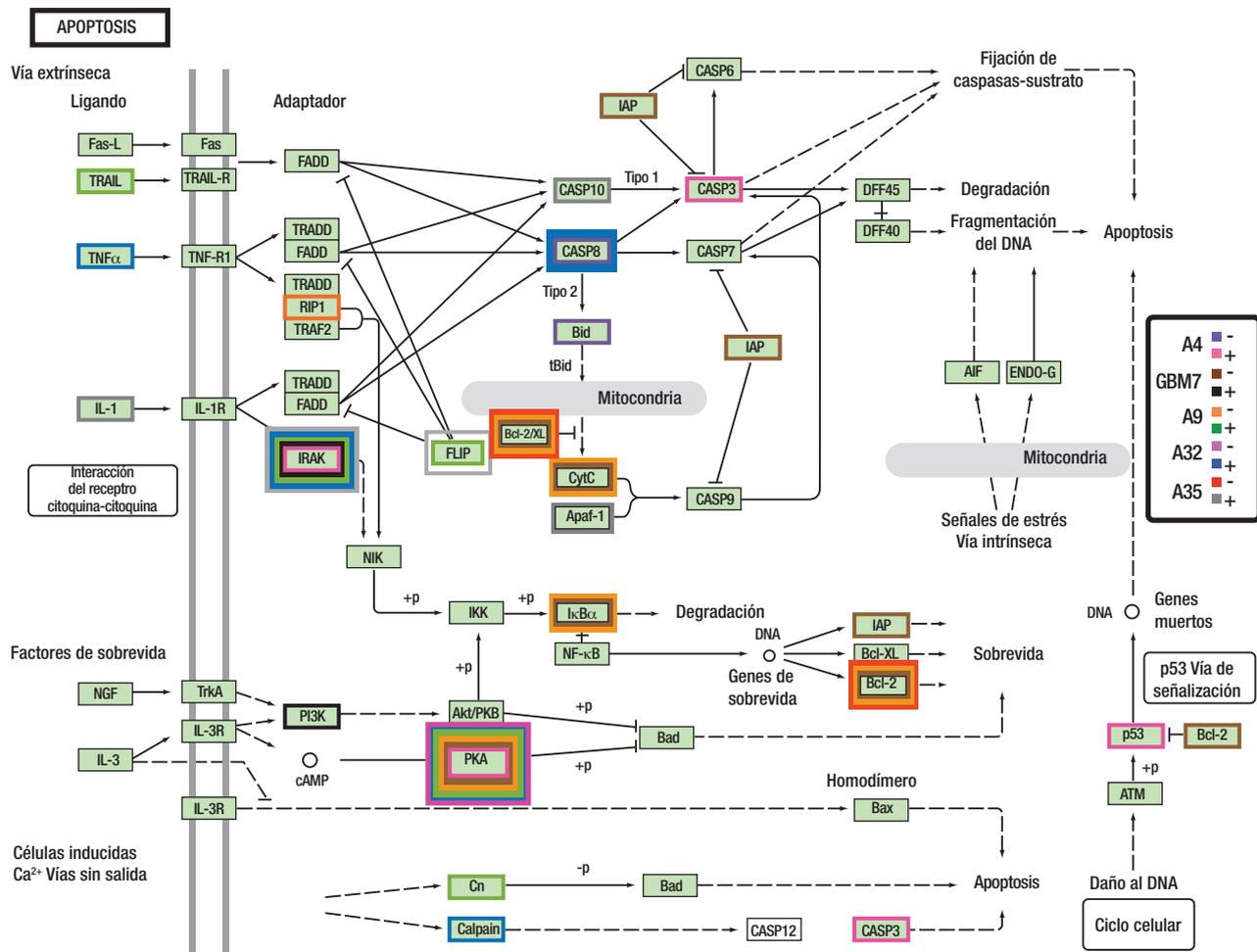
Hombre de siete años de edad; se diagnosticó en octubre de 2007 con un astrocitoma de bajo grado de tálamo, se realizó resección parcial y se envió a radiocirugía en febrero de 2008; sin embargo, presentó progresión tumoral en febrero de 2009, por lo que se realizó nueva resección y se inició Quimioterapia con ICE. Falleció en junio de 2009 por progresión tumoral (**Figuras 4 y 5**).

Al realizar los microarreglos para las vías de la apoptosis, se encontró subexpresión de los genes BID y CASP8 y sobre expresión de los genes IRAK y PKA.

PACIENTE – 4 CVA

Mujer de 13 años de edad; se diagnosticó en septiembre de 2007 con un glioblastoma multiforme temporoparietal, se realizó resección parcial e inició Quimioterapia con ICE. Falleció en diciembre de 2007 por progresión tumoral. (**Figuras 6 y 7**). Al realizar los microarreglos

Figura 1.
Expresión de la caspasas.



para las vías de la apoptosis se encontró subexpresión de los genes BCL-2, PKA, IAP, CytC e IKBa y sobre expresión de los genes IRAK y P13K.

PACIENTE – 5 GME

Hombre de nueve años de edad; se diagnosticó en noviembre de 2007 con un astrocitoma de alto grado de tallo cerebral, se realizó biopsia únicamente e inicio QT con ICE además de Radioterapia. Falleció en octubre de 2008. (Figuras 8 y 9)

PACIENTE – 6 SAM

Hombre de 14 años de edad; se diagnosticó en agosto de 2007 con un astrocitoma de bajo grado de tallo cerebral, se realizó biopsia únicamente, recibió QT con ICE además

de RT. Actualmente está vivo. Meses de supervivencia: 36 (Figura 10). Al realizar los microarreglos para las vías de la apoptosis, se encontró subexpresión de los genes BCL-2, PKA, Ikbα, Cn, RIP1, p53 y sobre expresión de IRAK, PKA, FLIP, Cn y TRAIL. En este caso llama la atención que el gen PKA se encontró tanto sub como sobre expresado, esto puede ser secundario a las distintas isoformas que todos los genes poseen. El gen TRAIL que está sobre expresado es el único de la vía extrínseca de la apoptosis, todos los demás corresponden a la vía intrínseca.

PACIENTE – 7 MSJ

Hombre de seis años de edad; se diagnosticó en marzo de 2008 con un astrocitoma de bajo grado de tallo cerebral, se realizó biopsia únicamente, inicio QT con carboplatino

Figura 2.



Figura 3.



Figura 4.

IRM al momento de la recaída.

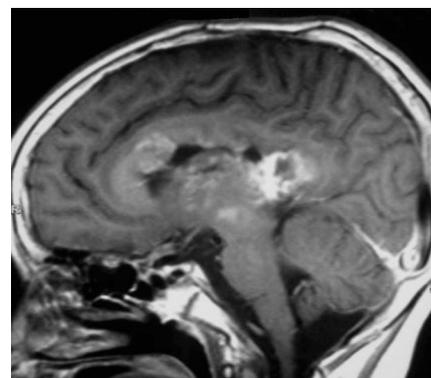


Figura 5.

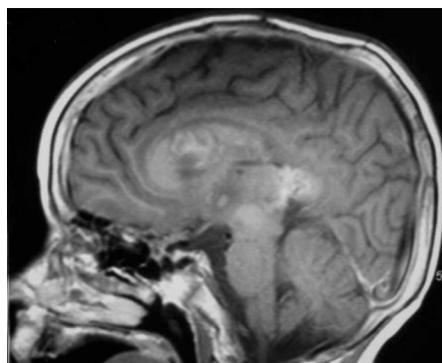
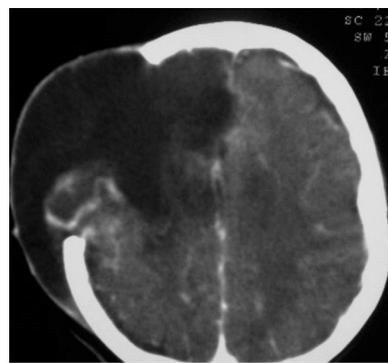


Figura 6.



Figura 7.



y vincristina y por datos de progresión tumoral se cambió al mes a esquema ICE, además recibió Radioterapia 54 Gy. Falleció en abril de 2009. (Figuras 11 y 12)

PACIENTE – 8 ACV

Mujer de cuatro años de edad; se diagnosticó en enero de 2008 con un astrocitoma de bajo grado de cerebelo, se realizó resección parcial por lo que inició tratamiento con QT con carboplatino y vincristina además de Radioterapia. Actualmente con 19 meses de sobrevida.

PACIENTE – 9 SGB

Niña de cuatro años de edad; se diagnosticó en junio de 2009 con un astrocitoma de bajo grado de tallo cerebral, se realizó biopsia únicamente e inicio QT con ICE. Actualmente tiene 22 meses de sobrevida.

PACIENTE – 10 CVF

Niña de cuatro años de edad; se diagnosticó en diciembre de 2007 con un astrocitoma de bajo grado parietal, se realizó resección completa. Actualmente está viva, con 24 meses de seguimiento sin progresión.

DISCUSIÓN

En el presente estudio se estudió de manera integral a 10 pacientes pediátricos portadores de un astrocitoma.

Como se ha comentado ampliamente, el comportamiento biológico de los astrocitomas varía mucho independientemente de su histología, no así en cuanto a su localización se refiere, tal como se corroboró en el presente trabajo, siguen siendo de peor pronóstico, aquellos de localización en el tallo cerebral.

Figura 8.

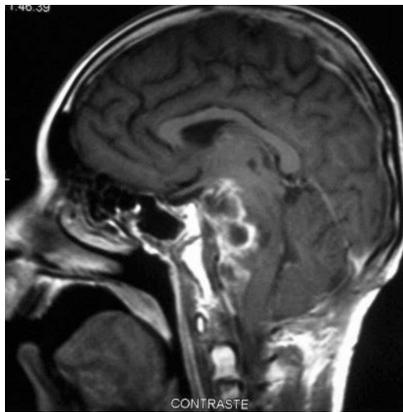


Figura 9.

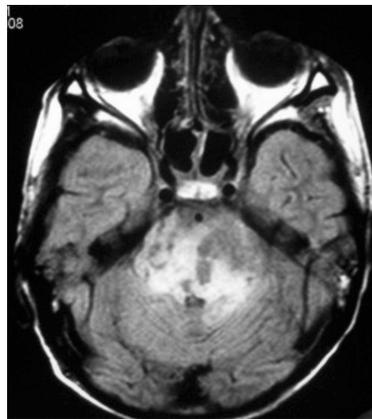


Figura 10.



Figura 11.

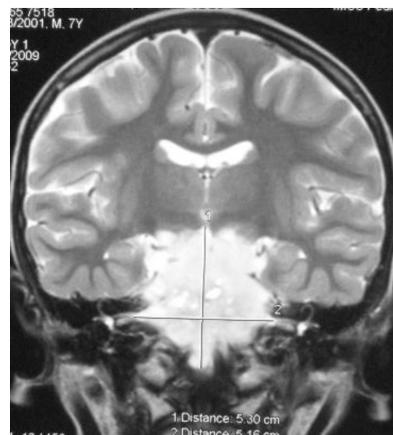


Figura 12.



No obstante, aquellos que por histología correspondían a un bajo grado de malignidad, pudimos encontrar que *in vitro*, podían tener un comportamiento tan agresivo como aquellos tipificados como de alto grado.

Recientemente se ha estudiado e involucrado de manera estrecha las vías de apoptosis con la evolución de la mayoría de los cánceres, incluidos los tumores cerebrales. El conocimiento actual de la apoptosis, como mecanismo regulador y homeostático de los tejidos explica ahora el desarrollo de tejido neoplásico en la mayoría de los casos. Y cualquier alteración o desbalance en éste mecanismo regulador, ya sea tanto en la vía extrínseca regulada por la

familia del TNF (factor de necrosis tumoral y TRAIL) o la vía intrínseca mitocondrial, da como resultado el desarrollo de un tumor.³⁰⁻³⁴

Recientemente se ha querido canalizar éste conocimiento, a fin de desarrollar moléculas que intervengan o favorezcan el desarrollo o estímulo de la apoptosis para tratar varios tipos de cáncer en la edad pediátrica como neuroblastoma y rhabdomioma.

El presente estudio, representa suma importancia, dado que es de los primeros que se desarrollan en Tumores de Sistema Nervioso Central en Pediatría. No pudimos encontrar una alteración genética constante o que se manifestara en una mayor proporción de los casos,

dado que encontramos tanto subexpresión como sobreexpresión en los genes involucrados con la apoptosis. Sin embargo, llamó fuertemente la atención que alguna alteración de las caspasas por lo menos estuvo presente en seis de los 10 pacientes estudiados, ya sea porque estuvo subexpresada o sobreexpresada.

Las caspasas son importantes porque juegan un rol principal en la ejecución de la apoptosis celular, principalmente la caspasa-8 que pareciera llevar la iniciativa para activar el resto de la cascada de los mecanismos de muerte celular. En la vía extrínseca de la apoptosis, la estimulación de los receptores de la muerte del TNF CD-95 (apo-1/Fas) o TRAIL, permiten la activación del iniciador caspasa-8, que directamente se va a unir a la caspasa-3 o alternativamente unirse al receptor de la vía mitocondrial por vía del BID. El BID es miembro de la familia del BCL-2 que activa a la mitocondria para desencadenar la apoptosis.³⁵⁻³⁷

En este estudio, lo que se pretendió fue estudiar de manera integral tanto desde el punto de vista clínico, como histológico, radiológico y molecular a estos tumores, con el fin de entender a fondo su comportamiento biológico y a futuro poder dirigir de una manera más adecuada un tratamiento específico. Basados en que la evasión de la apoptosis es una característica de las malignidades en la infancia que contribuye a la carcinogénesis así como a la resistencia al tratamiento, se cree que el tener una apoptosis defectuosa en las células tumorales puede convertirse en resistencia tumoral. Para éste punto, las terapias blanco a la apoptosis se pueden dirigir directamente hacia las células cancerosas o incrementar la respuesta de los tumores pediátricos a las terapias convencionales tanto Quimioterapia como Radioterapia.^{35,37}

La idea de activar éstos receptores de la muerte de la familia del TNF es atractiva por su aplicación médica, dado que estos receptores están involucrados en la muerte celular. En éste sentido, el oncogén TRAIL se ha considerado como el primer candidato, ya que induce la apoptosis en las células cancerosas mientras las normales pasan desapercibidas.

En este contexto, el encontrar estos genes alterados en el presente estudio, cobra más importancia. No pudimos encontrar una correlación directa entre alteración de la vías de apoptosis y sobrevida dado que el tamaño de la muestra es pequeña y en todos los tumores que estudiamos encontramos una alteración en algunos de éstos genes; sin embargo, como ya se mencionó, se corroboró como muy importante y frecuente la identificación de la alteración de algunas de las caspasas, así como el gen TRAIL y BCL-2. El poder continuar este estudio nos permitirá ampliar más la muestra y poder estudiar a fondo

éstas líneas celulares con el objeto de poder ajustar y administrar tratamientos blanco mejor dirigidos.

REFERENCIAS

1. Gurney J, Smith M, Bunin G. CNS and miscellaneous intracranial and intraspinal neoplasms. En: Ries LAG, Smith MA, Gurney JG. Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER program 1975-1995. NIH Pub No 99-4649. Bethesda MD: National Cancer Institute, SEER Program, 1999;pp: 51-63.
2. Compendio del Registro Histopatológico de Neoplasias en México. Morbilidad, regionalización 1993-1996 y mortalidad. Tendencias 1985-1995, México. Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. 1998.
3. Grovas A, Fremgen A, Rauck A. The National Cancer Data Base report on patterns of childhood cancers in the United States. Cancer 1997;80:2321-2332.
4. Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. J Neuropathol Exp Neurol 2005;64:479-489.
5. Ashkenazi A. Targeting death and decoy receptors of the tumor-necrosis factor superfamily. Nat Rev Cancer 2002;2:420-430.
6. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. Science 1998;281:1312-1316.
7. Lavrik IN, Golks A, Krammer PH. Caspases: pharmacological manipulation of cell death. J Clin Invest 2005;115:2665-2672.
8. Reed JC, Huang Z. Apoptosis pathways and drug targets. Nature Rev Drug Discov 2004;3:895-910.
9. Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. 2005;55:178-194.
10. Lowe SW, Lin AW. Apoptosis in cancer. Carcinogenesis 2000;21:485-495.
11. Ellis RE, Yuan J, Horvitz HR. Mechanisms and function of cell death. Annu Rev Biol 1991;7:663-672.
12. Cohen BH, Zeltzer PM, Boyett JM, et al. Prognostic factors and treatment results for supratentorial primitive neuroectodermal tumors in children using radiation and chemotherapy: A children Cancer Group randomized trial. J Clin Oncol 1995;13:1687-1696.
13. Dohmann GJ, Farewell JR, Flannery JT: Astrocytomas in childhood: A potential-based study. Surg Neurol 1985;23:64-68.
14. Rutkowski S, Bode U, Deinlein F, et al. Treatment of early childhood medulloblastoma by postoperative chemotherapy alone. NEJM 2005;352:978-986.
15. Cohen BH, Zeltzer PM, Boyett JM, et al. Prognostic factors and treatment results for supratentorial primitive neuroectodermal tumors in children using radiation and chemotherapy: A children Cancer Group randomized trial. J Clin Oncol 1995;13:1687-1696.
16. Kleihues P, Burger PC and Scheithauer BW. The new WHO classification of brain tumors. Brain Pathol 1993;3:255-268.
17. Muñoz J, Fan X, Inda MM, et al. Genética molecular de los astrocitomas. ANALES Sis San Navarra 2000;23:265-278.
18. Diedrich U, Lucius J, Bitterman HJ, et al. Loss of alleles in brain tumors: distributions and correlations with clinical course. J Neurol 1995;242:702-711.
19. Chozik BS, Weicker MB, Pezullo JC, et al. Pattern of mutant p53 expression in human astrocytomas suggest the existence of alternate pathway of tumorigenesis. Cancer 1994;73:404-415.
20. Van de Kelft E. Molecular pathogenesis of astrocytoma and glioblastoma multiforme. Acta Neurochir Wien 1997;139:589-599.
21. López-Aguilar, Cerecedo-Díaz, Sepúlveda-Vildosola, et al. Astrocitomas en pediatría. Factores pronósticos y sobrevida. Gac Med Mex 1996;133:231-235.
22. Louis DN. A molecular genetic model of astrocytoma histopathology. Brain Pathol 1997;7:755-764.
23. Collins VP. Progression as exemplified by human astrocytic tumors. Semin. Cancer Biol 1999;9:267-276.
24. Figarella-Branger D, Coulibaly B, Quilchini B, et al. Histological and molecular classification of gliomas. Rev Neurol 2008;164:505-515.
25. Kops GJPL, Weaver BAA and Cleveland DW. On the road to cancer: aneuploidy and the mitotic checkpoint. Nature 2005;5:773-785.
26. Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. J Neuropathol Exp Neurol 2005;64:479-489.
27. Gregory SG, Barlow KF, McLay KE, et al. The DNA sequence and biological annotation of human chromosome 1. Nature 2006;441:315-321.
28. Grimwood J, Gordon LA, Olsen A, et al. The DNA sequence and biology of human chromosome 19. Nature 2004;428:529-535.
29. Smith JS, Alderete B, Minn Y, et al. Localization of common deletion regions on 1p and 19q in human gliomas and their association with histological subtype. Oncogene 1999;18:4144-4152.

30. von Deimling A, Louis DN, Von Ammon K, et al. Evidence for a tumor suppressor gene on chromosome 19q associated with human astrocytomas, oligodendrogliomas and mixed gliomas. *Cancer Res* 1992;52:4277-4279.
31. Ellis RE, Yuan J, Horvitz HR. Mechanisms and function of cell death. *Annu Rev Biol* 1991;7:663-672.
32. Ashkenazi A. Targeting death and decoy receptors of the tumor-necrosis factor superfamily. *Nat Rev Cancer* 2002;2:420-430.
33. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998;281:1312-1316.
34. Lavrik IN, Golks A, Krammer PH. Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *J Clin Invest* 2005;115:2665-2672.
35. Reed JC, Huang Z. Apoptosis pathways and drug targets. *Nature Rev Drug Discov* 2004;3:895-910.
36. Ghobrial IM, Witzig TE and Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. *2005;55:178-194.*
37. Lowe SW, Lin AW. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis* 2000;21:485-495.

Tumores cerebrales en pediatría. Estado actual del diagnóstico y tratamiento

Pediatric brain tumors. Current status of diagnosis and treatment

Enrique López-Aguilar,¹ Ana Carolina Sepúlveda-Vildósola,² Ana Paulina Rioscovian-Soto,³ Jaime Diego-Pérez-Ramírez,⁴ Georgina Siordia-Reyes⁵

▷ RESUMEN

Introducción: Los tumores cerebrales son el tumor sólido más frecuente en la edad pediátrica. El conocimiento del cuadro clínico y de los hallazgos radiológicos, continúa siendo importantes dado que en la mayoría de los casos, éstos no se diagnostican de una manera oportuna y llegan a los centros de manejo especializados en una etapa avanzada.

Tratamiento: Mucho se ha avanzado en el tratamiento de éstos tumores sobre todo en las últimas dos décadas. Avances en técnicas neuroquirúrgicas han contribuido a una resección más amplia de éstos tumores con mínimas secuelas, siendo ésta la modalidad terapéutica piedra angular para el tratamiento de éstos tumores; cirugías menos invasivas limitadas a sólo biopsias son ahora realizadas en aquellos pacientes con tumores en la región pineal para disminuir la morbimortalidad secundaria a los síndromes neuroendocrinos asociados. En quimioterapia se han logrado avances importantes al entender el comportamiento biológico de éstos tumores lo cual nos permite ahora dar tratamientos con blancos más dirigidos a las diferentes fases del ciclo celular y contra factores

▷ ABSTRACT

Introduction: Brain tumors are the most frequent solid tumor in children. It is important to know the clinical presentation and radiologic findings in order to diagnose and treat them in early stages.

Treatment: Great advances in the treatment of these tumors have been made in the last two decades. Neurosurgery techniques have permitted greater tumor resection with minimal sequelae, which continues as the cornerstone in the treatment of these patients; less invasive surgeries can now be done in those patients with pineal region tumors, which have contributed to less neuroendocrine syndromes associated to extensive surgery. Also, many advances have been made in the chemotherapeutic regimens administered to these patients. The knowledge of the biology of the tumors has permitted the administration of drugs targeted to different phases of the cell cycle and against epithelial and vascular growth factors to obtain better results. In radiotherapy, the management with tridimensional and conformational techniques has also contributed with a better response.

Discussion: A multidisciplinary strategy must be initiated in the treatment of pediatric patients with brain tumors, based on the three elements available nowadays: surgery, chemotherapy and

1Jefe de Servicio Oncología Pediátrica
2Directora de Educación e Investigación en Salud
3Servicio de Oncología
4Jefe Servicio Neurocirugía
5Servicio de Patología
UMAE Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

Correspondencia: Dr. Enrique López-Aguilar. Laboratorio de Investigación en Tumores Cerebrales. Instituto Mexicano del Seguro Social. Av. Cuauhtémoc 330. Col. Doctores 06720 Teléfono: 5627 6900, extensión: 22528. Correo electrónico: elopezaguilar@hotmail.com

de proliferación vascular y epitelial para obtener los mejores resultados; en radioterapia el manejo tridimensional y conformacional de éstos tumores con mucho han contribuido a mejorar las expectativas.

Discusión: El manejo de un niño con un tumor cerebral debe darse sobre la base de un tratamiento multidisciplinario en el cual se debe contar con las tres armas estratégicas con las que al momento actual se cuentan: cirugía, quimioterapia y radioterapia, manejadas todas ellas con los mayores conocimientos y actualización continua con los que sea posible

Palabras clave: Tumores cerebrales, tratamiento, niños, México.

radiotherapy. Advances in the knowledge in any of the above mentioned strategies must be incorporated when available.

Keywords: Brain tumors, treatment, children, Mexico.

▷ INTRODUCCIÓN

Los tumores cerebrales, representan el tipo de tumor sólido más frecuente en la edad pediátrica, siendo los segundos en frecuencia general después del grupo conformado por las leucemias y los linfomas.^{1,2}

Los signos y síntomas de la disfunción neurológica en un niño con un tumor cerebral varían y dependen tanto de la edad y desarrollo del niño como de la localización y origen de la tumoración.

Es importante siempre mencionar los signos y síntomas, aunque de manera somera, que éstos pacientes presentan, dado que aún nos siguen llegando en etapas muy avanzadas de la enfermedad, incluso, no son referidos de manera adecuada en muchos de los casos por los médicos neurocirujanos, que en las más de las veces, son los que tienen el primer contacto con estos pacientes.

Así pues, debe saberse que no existen signos o síntomas patognomónicos para el diagnóstico de un tumor cerebral en pediatría, sino que éstos de manera inicial van en relación al incremento de la presión intracraneana, la cual puede deberse o bien a una masa que crece y que ocupa espacio o a la obstrucción en la circulación del líquido cefalorraquídeo (LCR). Estos síntomas atribuidos a un lento desarrollo de la presión intracraneal pueden ser irritabilidad, letargia, vómito, anorexia, cefalea y muy frecuentemente cambios en la conducta. Muchos de estos tumores se acompañan de alteraciones en la personalidad y es bien conocido que signos y síntomas focalizados no necesariamente van de la mano a una enfermedad focalizada. De manera similar, una cefalea focalizada

acompañada de ataxia y cambios en la conducta, pueden todos reflejar un proceso intracraneano generalizado.¹ El hallazgo de un edema de papila sugiere un incremento en la presión intracraneal y debe determinarse la causa de manera urgente. En los lactantes un incremento en el perímetro cefálico o una separación de las suturas craneales sugiere una lesión ocupante de espacio y debe igualmente definirse la causa. Cuando estos datos no se atienden, progresan hacia alteraciones visuales, aunque en los lactantes no se presentan dada la capacidad de la expansión craneal. Es importante señalar también que los tumores que más rápidamente producen edema de papila son aquellos localizados en cerebelo; dado que, de manera más rápida obstruyen la circulación del LCR por obstrucción del cuarto ventrículo y el desarrollo de hidrocefalia obstructiva.

El vómito puede presentarse en cualquier tipo de tumoración, debido al incremento generalizado de la presión intracraneana o bien por irritación directa del núcleo vagal o del centro del vómito localizado en el piso del cuarto ventrículo. El vómito puede ser cíclico y contrario al conocimiento popular; éste generalmente no es en proyectil y puede ocurrir diariamente, predominantemente por las mañanas y seguidos por un periodo de resolución y aunque éstos ocurren en la etapa inicial de la tumoración, posteriormente pareciera que disminuyen por un acomodamiento de las suturas craneales o por una adaptación al incremento de la hipertensión endocraneana.

Cuando se combinan dos síntomas como cefalea o vómito, entonces ya es más sugestivo de una tumoración,

sobre todo si se presentan por la mañana después de levantarse.

Conociendo ya los principales signos y síntomas que se presentan en éstos pacientes, se tiene ya la herramienta básica para poder diagnosticarlos. Cuando la sospecha clínica lo justifica, el estudio de gabinete de elección para establecer el diagnóstico es la imagen de resonancia magnética (IRM) de cráneo que es más específica y sensible que la tomografía computarizada (TC) de cráneo en la cual pueden no hacerse evidentes algunas tumoraciones sobre todo los gliomas de bajo grado del tallo donde es difícil la identificación de la tumoración por simple estudio tomográfico. La IRM es superior porque nos provee de una definición anatómica exquisita diferenciando perfectamente el tejido sano del enfermo. Aunque debe recalarse que en algunos centros donde no se cuenta con la posibilidad de realizar el primer estudio, la TC sigue siendo una buena opción. El estudio de espectroscopia es de utilidad, sobre todo para valorar la respuesta inicial al tratamiento, dado que nos permitirá definir si una imagen es sugestiva de lesión tumoral activa o de gliosis.

El estudio de PET (tomografía por emisión de positrones), no es de mucha utilidad aunque es controversial, dado que éste se basa en el metabolismo de la glucosa, el cual es elevado siempre en el tejido cerebral.

Finalmente, el diagnóstico histopatológico se obtiene mediante el estudio por microscopía de luz e inmunohistoquímica del espécimen obtenido mediante biopsia o resección de la tumoración total o subtotal por un neurocirujano capacitado en niños. Es importante señalar que en los casos de tumoración en tallo cerebral donde el acceso quirúrgico es difícil pudiendo producir secuelas, el espécimen se obtiene mediante biopsia por esterotaxia pudiendo contar así con el diagnóstico histopatológico de certeza, esencial en el futuro manejo multidisciplinario de este paciente.

Sin embargo, éste diagnóstico histopatológico ya no nos es suficiente para poder tipificar de manera adecuada a éstos pacientes, por lo que es indispensable el contar con un panel completo de inmunohistoquímica que nos dé más luz sobre el comportamiento biológico de éstos tumores. Estos nuevos marcadores deben incluirse necesariamente en el estudio de estos pacientes debiéndose contar por lo menos con la determinación de Ki-67, BCL-2, AKT, p53 y CD-133 para poder tener más elementos diagnósticos y poder plantear una estrategia terapéutica adecuada

▷ TRATAMIENTO

Sin duda, debe ser multidisciplinario. Participan áreas como la neurocirugía, la radioterapia y la quimioterapia,

sin dejar a un lado el beneficio que otorga el manejo de la rehabilitación y el apoyo emocional así como la participación del pediatra y endocrinólogo, sobre todo éste último en los casos en los cuales se desarrolla un cuadro de diabetes insípida, o alteraciones neuroendocrinas secundarias al procedimiento quirúrgico y de radioterapia.

1. Neurocirugía: Es sin duda la piedra angular en el tratamiento de los tumores cerebrales y en general, del sistema nervioso central. Es de conocimiento general en quienes tratan a estos pacientes que una mayor resección quirúrgica de la tumoración conlleva a una mejor expectativa de vida, sin embargo es aquí donde es difícil cumplir el principal criterio oncológico quirúrgico -la resección de la tumoración con márgenes libres de células neoplásicas- y es que el tejido adyacente en el cual se origina, es tejido funcional, por lo que es importante realizar un buen procedimiento quirúrgico sin dejar secuelas neurológicas permanentes. De tal manera que los objetivos que se pretenden mediante la cirugía son tres: a) Establecer el diagnóstico histopatológico; b) Reducir el efecto de masa de la tumoración que ocasiona obstrucción con mejoría en la circulación del LCR y c) Potencialmente buscar la cura del paciente mediante la resección completa o, cuando esta no es posible, remover la mayor cantidad de tumor logrando una cito-reducción quirúrgica. El establecer un diagnóstico histopatológico es obviamente importante primeramente para saber si es una tumoración de naturaleza benigna o maligna y es crucial para planear el tratamiento subsecuente, drogas a administrar, manejo de radioterapia a ofrecer y además para poder considerar un pronóstico. Por ejemplo, una tumoración en la región pineal deberá establecerse si es una lesión benigna, como un teratoma o quiste dermoide, o si se trata de un pinealoblastoma o germinoma que requerirá un tratamiento médico ulterior. La reducción del efecto de masa y del volumen de la tumoración es importante porque en un niño mayor de dos años de edad el cráneo es una cavidad rígida donde no hay posibilidad de expansión y un crecimiento tumoral puede ser incompatible con la vida. Por otro lado, una resección quirúrgica completa de la tumoración puede por sí sola llevar a la cura del paciente como en el caso de los craneofaringiomas y de los astrocitomas de bajo grado de la fosa posterior. Los avances recientes en las técnicas quirúrgicas también han contribuido para mejorar la supervivencia de estos pacientes, el advenimiento del microscopio quirúrgico ha permitido mejorar la habilidad del neurocirujano para desarrollar una microdissección extensa del tumor sin comprometer estructuras cerebrales funcionales reduciendo la morbilidad y mortalidad de estos pacientes.

2. *Radioterapia (RT)*: Esta modalidad terapéutica es frecuentemente utilizada en el manejo de los niños con tumor cerebral. Durante décadas se consideró que su empleo posterior a la cirugía mejoraba la sobrevida de estos pacientes; de hecho a la fecha, en la mayoría de los casos de los pacientes adultos, es la única forma de tratamiento después de la cirugía. Los detalles y las técnicas de la RT varían dependiendo de la histología del tumor y localización así como de la edad del niño. El éxito de la RT estriba en lograr una muerte selectiva de células tumorales. Biológicamente la radiación ionizante interactúa íntimamente con el DNA celular el cual es afectado directa e indirectamente después de la ionización intracelular, lo cual producirá radicales libres causando daño al DNA. Sin embargo, la muerte celular raramente se produce inmediatamente sino que es de manera posterior al existir una incapacidad celular de reparar el daño inducido por estos radicales libres. De hecho el daño celular se puede observar durante los siguientes intentos de duplicación de la célula tumoral impidiendo la supervivencia de la clona celular eliminando el potencial de ésta de seguir creciendo y mandar metástasis. Después de la exposición a las radiaciones ionizantes hay un decremento exponencial en la sobrevida celular, por ejemplo, una dosis de radiación administrada producirá la misma proporción de muerte celular y un incremento en la dosis resultará en una exponencial muerte celular. Para lo anteriormente expuesto, debe conocerse que las dosis absorbidas por el tejido son expresadas en unidades de gray (Gy), específicamente definido como un *joule* de energía absorbida en 1 kg de masa. Un Gy es igual a 100 *rad* en el sistema anterior y la práctica común incluye al centigray (cGy) que es igual a un *rad*. Con la finalidad de disminuir la capacidad de reparación de las células tumorales, se ideó la RT hiperfraccionada en la cual se divide la dosis diaria de RT en dos, hiperfraccionando de ésta manera la dosis sin comprometer la dosis acumulada tolerable para cada paciente y efectiva para el tumor en particular. En el caso de los meduloblastomas, ésta ha probado su utilidad y beneficio. Sin embargo, una de las complicaciones más temidas, aunque rara, secundaria al empleo de la RT es la necrosis cerebral postirradiación, que es muy rara encontrarla a dosis de 54-56 Gy que es lo que frecuentemente se administra, pero es una posibilidad a considerar ocurriendo ésta entre seis a 24 meses posterior al tratamiento. Actualmente se están realizando avances a fin de identificar las técnicas ideales de administración las cuales están orientadas hacia la precisión, volumen y cobertura siendo hoy en día la RT conformacional la forma de administración más atractiva.³

3. *Quimioterapia (QT)*: El desarrollo de nuevos esquemas de QT para el manejo de los niños con tumor cerebral data de la década de los 80 s al momento actual, no siendo considerada inicialmente ésta forma de tratamiento como útil para estos pacientes, dado que se consideraba a la barrera hematoencefálica como limitante para el paso de drogas antineoplásicas al cerebro. Por lo anterior, se consideraba únicamente a las nitrosureas como útiles dada su liposolubilidad, bajo peso molecular y pobre fijación a las proteínas plasmáticas en el tratamiento de los tumores cerebrales. Fue hasta 1989 cuando Kovnar reporta su trabajo utilizando el cisplatino y el VP-16 como útiles en el manejo de éstos pacientes administrado incluso antes del manejo de la RT y posterior a la cirugía.⁴ Este trabajo fue realizado bajo la base de que la barrera hematoencefálica es disfuncional en el área adyacente al tumor y que éste disfuncionamiento permitiría el paso de la QT al tejido tumoral demostrando una reducción dramática en el volumen tumoral postquirúrgico. Es pues Kovnar el primero en utilizar la neoadyuvancia en los tumores cerebrales posterior a lo cual innumerables artículos han sido publicados.⁵⁻⁷ El conocimiento de la cinética celular es básico para poder entender las actuales teorías de mecanismo de acción de los más modernos agentes quimioterápicos en los tumores cerebrales. Como ya se mencionó, por la rigidez del cráneo, el incremento considerable en la presión intracraneana, puede ser incompatible con la vida. Shapiro ha estimado que para tumores cerebrales primarios, un tumor de 100 g es fatal. Cien gramos equivalen a uno $\times 10^{11}$ células. El promedio de cuando un tumor cerebral empieza a ser sintomático es de tres a seis $\times 10^{10}$ células. Una cirugía completa es pocas veces posible y en la mayoría de los casos quedan residuales postquirúrgicos de uno a cinco $\times 10^9$ células. Las modernas técnicas de RT pueden remover dos logaritmos de células quedando uno a cinco $\times 10^7$ células teniendo que removerse dos logaritmos más a fin de que el propio sistema inmune del niño pueda controlar el residual de uno a cinco $\times 10^5$ células que es lo que en forma general se asume, el sistema inmune puede controlar. Existen varios esquemas hoy en día para el manejo de los tumores cerebrales. Para los astrocitomas de alto grado actualmente se están empleando esquemas conteniendo nitrosureas y en otros centros otros tratamientos incorporando la ifosfamida, el carboplatino y el etopósido. Para los meduloblastomas se ha demostrado la utilidad del carboplatino y el etopósido, así como una mejoría en la sobrevida al incorporar una tercera droga que es la ifosfamida en el clásico esquema ICE. En la actualidad, se están corriendo diversos estudios incorporando a la Temozolamida que es un agente alquilante oral de segunda

generación con amplio espectro de actividad antitumoral sintetizado en 1984 por Stevens y colaboradores, el cual es un derivado imidazotetrazínico de la dacarbazina que no requiere del metabolismo hepático, dado que en un pH fisiológico se transforma a la forma activa (MTIC) siendo su principal mecanismo de acción la alquilación de la guanina en la posición O-6. Esta droga ha probado su utilidad en algunos casos de astrocitomas de alto grado de malignidad potencializando su actividad antitumoral cuando se combina con otros agentes quimioterápicos. En pediatría se ha incorporado esta droga al esquema ICE para los astrocitomas de alto grado de malignidad mejorando su sobrevida. Sin embargo deben realizarse nuevos esfuerzos y estrategias terapéuticas para mejorar la sobrevida de estos pacientes.

Sin duda un avance importante ha sido el empleo de la quimioterapia metronómica para el tratamiento de los niños con tumores del tallo cerebral, combinado varias drogas, a dosis bajas pero continuas, con diferente sitio y mecanismo de acción, mejorando la sobrevida de estos pacientes en cerca de 50% a dos años.⁸

► DISCUSIÓN

Las nuevas direcciones en el tratamiento de los tumores cerebrales apuntan hacia un manejo multidisciplinario incorporando varias estrategias terapéuticas e individualizando los casos según sea la estirpe histológica de la tumoración, la localización, la extensión, la edad del paciente y el comportamiento biológico de la misma; planteando la posibilidad de agregar a los tratamientos de quimioterapia convencionales un antiangiogénico, como pudieran ser nimotuzumab, bevacizumab o sorafenib, cuando los tumores expresen el antígeno de superficie CD-133 o el factor de crecimiento epidermoide (EGFR)

según sea el caso procurando analizar a cada niño en particular ofreciéndole las mejores técnicas quirúrgicas posibles así como las mejores formas de radioterapia y mejores protocolos de quimioterapia.

La importancia de la detección de la Enfermedad Residual Mínima (ERM) por citometría de flujo en líquido cefalorraquídeo en aquellos pacientes con tumor cerebral con posibilidad de diseminación a neuroeje, en particular los ependimomas, meduloblastomas y tumores germinales de la región pineal, nos plantea la posibilidad de cambiar una estrategia terapéutica o delimitar con certeza el fin de un tratamiento de quimioterapia y radioterapia en un paciente con un tumor cerebral y de esta forma tener más preciso el estado de la enfermedad.

Todos éstos elementos en conjunto, deben ahora incorporarse si se pretende brindar una estrategia terapéutica adecuada a cada niño con un tumor cerebral.

REFERENCIAS

1. Magrath I, Gad-el-Mawla N, Peng HL, Spelman S, Camargo B, Petrilli S, Diez B, Becu L, Williams C. *Pediatric Oncology* 2nd Ed. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1993;pp: 1225-1251.
2. Parkin DM, Stiller CA, Draper GJ, Bieber CA. Internacional incidente de childhood cancer. *Int J cancer* 1988;42:511-520.
3. Ries LA, Miller RW, Smith MA. Cancer in children (ages 0-14 and ages 0-19) USA-SEER. *Cancer Statistics Reviews: 1973-1990 NIH publ. No. 93-2789*. Bethesda, MD: National Cancer Institute; 1993 pp. XXVII-XXVII 15.
4. Kovnar V, Heideman R. Preirradiation chemotherapy with carboplatin and etoposide in medulloblastoma. *J Clin oncol* 1999;23:236-45.
5. López-Aguilar E, Rivera MH, Sepúlveda VA. Survival of patient with medulloblastoma treated with carboplatin and etoposide before and after radiotherapy. *Arch med Res* 1998;29:313-9.
6. López-Aguilar E, Rivera MH, Sepúlveda VA. Preirradiation ifosfamide, carboplatin and etoposide (ICE) for the treatment of high grade astrocytomas: A phase II study. *Arch Med Res* 2000;1-5.
7. Rivera-Luna R, López A. E, Rivera MH, Rivera-Ortgon F, Altamirano A. E. Survival of children under 3 years old with medulloblastoma: a study from the mexican cooperative Group for Childhood malignancies (AMOHP). *Childs Nerv System* 2002;18:38-42.
8. López-Aguilar E, Sepúlveda VA, Rocha-Moreno Yael. Metronomic chemotherapy in brain stem tumor. A phase II Study. *Arch Med Res* 2008

La importancia de los marcadores moleculares en el planteamiento terapéutico del niño con tumor cerebral

Molecular markers in the therapeutic strategies in children with astrocytoma

Enrique López-Aguilar,¹ Ana Carolina Sepúlveda-Vildósola,² Hermilo de la Cruz-Yáñez,³ Graciela Gascón-Lastiri⁴

▷ RESUMEN

Introducción: Los tumores cerebrales son el tipo de tumor sólido más común en la edad pediátrica. Sin embargo, aunque se han logrado avances en las últimas décadas, mismas histologías presentan un comportamiento biológico diferente en cada paciente. El conocimiento de los marcadores tumorales y de las vías de señalizaciones tanto intrínsecas como extrínsecas de la apoptosis, nos ha dado luz al mayor entendimiento del comportamiento biológico de éstos tumores lo cual nos permite brindar un tratamiento más dirigido con mejores probabilidades de respuesta.

Marcadores moleculares: La importancia de la expresión de antígenos de superficie como el CD-133, el Ki67, entre otros; así como, el conocimiento de algunos genes involucrados en la vía intrínseca de la apoptosis como el p53 y el BCL-2, nos ha hecho entender cómo se está comportando cada tumor específicamente en cada niño, lo cual nos permite planear de manera más adecuada, la estrategia terapéutica.

▷ ABSTRACT

Introduction: Brain tumors are the most common solid tumor in children. Although great advances have been achieved in the treatment and survival of these patients, histologically identical tumors have many different biological responses. Recently, other prognostic factors have been studied, such as molecular parameters, intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis, which have contributed to the knowledge of these tumors, and more individualized treatments.

Molecular markers: The expression of surface antigens such as CD-133 and Ki67 among others, as well as the knowledge of those genes involved in the intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis such as p53 and BCL-2, has permitted a more comprehensive approach to each patient's disease, and enables us to give a more specific and individualized treatment.

Discussion: It is evident that histologic and radiologic parameters are not enough nowadays to stratify risk in pediatric brain tumors. Molecular markers must be included in order to correctly diagnose and treat these patients.

1Jefe de Servicio Oncología Pediátrica.
2Directora de Educación e Investigación en Salud.
3 Director General.
UMAE Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.
4Oncóloga Pediatra.
Hospital General, Celaya, Gto. Secretaría de Salud.

Correspondencia: Dr. Enrique López Aguilar. Laboratorio de Investigación en Tumores Cerebrales. Instituto Mexicano del Seguro Social. Av. Cuauhtémoc 330. Col. Doctores 06720. Teléfono: 5627 6900, ext. 22528. Correo electrónico: elopezaguilar@hotmail.com

Discusión: Es evidente, que después de leer el presente artículo, no es suficiente contar con elementos histológicos y radiológicos para poder estratificar de manera más adecuada a un niño con un tumor cerebral, y que debemos contar con un perfil de marcadores moleculares completo para poder tratarlos.

Palabras clave: Parámetros moleculares, tumores cerebrales, niños, México.

Keywords: *Molecular parameters, brain tumors, children, Mexico.*

▷ ANTECEDENTES

Los tumores cerebrales son el tipo de tumor sólido más frecuente en la edad pediátrica.¹ A pesar de ello, pocos avances se han logrado en los últimos 40 años, por lo cual es tiempo de profundizar más en el conocimiento del comportamiento biológico de éstos tumores para poder plantearse una estrategia terapéutica más dirigida que pueda mejorar la sobrevida de éstos niños que lo padecen.²

La expectativa de vida de acuerdo a la SEER (*Surveillance, Epidemiology, End Result*) a los cinco años es de 56%; los de mejor pronóstico son los astrocitomas de bajo grado, en fosa posterior y los de peor pronóstico son aquellos con glioma del tallo y astrocitomas de alto grado³ (80% y 56% de sobrevida a cinco años respectivamente).

No existen signos o síntomas patognomónicos de los tumores cerebrales, sino que inicialmente van en relación con el incremento de la presión intracraneal por masa ocupante, o bien por la obstrucción en la circulación del líquido cefalorraquídeo. Son frecuentes la cefalea de predominio matutino, vómitos en proyectil, que puede ser cíclicos u ocurrir diario por las mañanas;⁴ en los lactantes se presenta aumento del perímetro cefálico.⁵ La presencia de pérdida de balance en la función del tronco cerebral, como alteraciones en la coordinación de las extremidades superiores y afección a pares craneales, sugiere fuertemente tumor en el tallo cerebral.⁶⁻⁸

El diagnóstico se puede establecer claramente mediante un estudio de imagen por Resonancia Magnética, que nos permite definir claramente el sitio del tumor, así como su volumen, y de acuerdo con las características radiológicas, poder presumir una variante histológica. Sin

embargo, esto último se confirma únicamente mediante el estudio histopatológico de una muestra del tumor obtenido mediante biopsia, resección total o subtotal del mismo.

No obstante lo anterior, los avances en el entendimiento del comportamiento biológico de éstos tumores nos han demostrado que histologías similares pueden tener un comportamiento clínico diferente que varía completamente de un niño a otro e incluso diferente dependiendo de la localización del tumor; así pues, un ependimoma no se comporta igual si se presenta a nivel supratentorial que infratentorial, y un astrocitoma de bajo grado no se comporta igual si se origina en el cerebelo o en el tallo cerebral, tálamo o vías ópticas.

El tratamiento al momento actual es multidisciplinario, inicialmente con neurocirugía cuyos objetivos son: establecer el diagnóstico histopatológico, reducir el efecto de masa de la tumoración que ocasiona obstrucción, mejorar la circulación del líquido cefalorraquídeo y potencialmente buscar la cura del paciente mediante resección completa o cuando esto no sea posible logrando cito reducción quirúrgica.⁹ La quimioterapia neoadyuvante, basada en que la barrera hematoencefálica es disfuncional en el área adyacente al tumor y permite el paso de la QT al tejido tumoral ha demostrado también grandes beneficios.¹⁰ La radioterapia pretende lograr una muerte selectiva de las células tumorales, impidiendo la supervivencia de la clona celular y eliminado el potencial de esta a seguir creciendo y de enviar metástasis.¹¹ Asimismo, es fundamental la participación de un pediatría general, el médico de rehabilitación y el endocrinólogo ya que frecuentemente, estos pacientes pueden presentar algún síndrome neuroendocrino.^{9,12}

▷ PARÁMETROS CLÍNICOS Y MOLECULARES

Los factores pronósticos de estos tumores pueden dividirse en:

1. Factores clínicos: la edad¹³ (los menores de tres años tienen mal pronóstico debido a que no es posible utilizar la radioterapia como parte del manejo), la localización del tumor, el porcentaje de resección quirúrgica, la quimioterapia utilizada y el estado funcional de Karnofsky.
2. Histología (mal pronóstico para aquellas variantes anaplásicas y que expresen el Ki67 positivo).¹⁴
3. Factores moleculares¹⁵⁻¹⁷
 - a) Los oncogenes que están implicados en dos procesos celulares básicos que son: la transducción de la señal mitogénica (factores de crecimiento y proteínas de transmisión de señales) y la transcripción génica (proteínas reguladoras de la transcripción del ADN) y en los gliomas juegan un papel fundamental en el proceso de carcinogénesis, como son el gen PAX 5, las quinasas dependientes de ciclinas 4 (CDK4), y el gen MDM2 (*Murine Double Minute*).
 - b) Los factores de crecimiento (FC) celulares, son proteínas que en condiciones fisiológicas regulan el crecimiento y la diferenciación celular. La actividad de los factores de crecimiento puede estar aumentada básicamente a través de dos mecanismos: por un incremento del número de copias del gen que los codifica (amplificación génica), o bien por un aumento en la producción de proteína por el gen (sobreexpresión). La sobreexpresión de los factores de crecimiento en los tumores malignos se asocia; por lo general, a una mayor agresividad biológica. La sobreexpresión o amplificación génica del gen c-erb-B2 que codifica al EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico) se presenta en 1% de los astrocitomas de bajo grado, 10% de los astrocitomas anaplásicos y 40% de los glioblastomas multiformes y se relaciona con un mal pronóstico. La sobreexpresión del gen PCAF (que codifica al factor asociado CBP, una histona acetiltransferasa)¹⁹ podría representar un nuevo marcador molecular para tumores malignos del sistema nervioso central.
 - c) Genes supresores tumorales,^{17,19,20} que cuando se encuentran afectados, son marcadores de peor pronóstico. La pérdida de la función de la proteína p53 es la alteración genética más frecuentemente identificada en tumores sólidos. La región cromosómica que codifica esta proteína, la 17p13, se encuentra alterada en 30% de los astrocitomas de cualquier grado de malignidad. El gen del retinoblastoma

(Rb) se localiza en el cromosoma 13 (13q14) y codifica la proteína pRb1 que regula la transición de G0/G1 a S durante el ciclo celular, su inactivación por delección o mutación ocurre en 20% de los astrocitomas anaplásicos y en 35% de los glioblastomas multiformes, y se correlaciona inversamente con las mutaciones del gen p16. El gen p16 se localiza en el brazo corto del cromosoma 9 (9p21) y codifica la proteína p16 que ejerce una regulación negativa sobre el ciclo celular al inhibir la acción de las quinasas dependientes de ciclinas CDK4 y CDK6 facilitando la acción reguladora de la pRb1. La delección 9p21 se puede identificar hasta en 80% de los glioblastomas multiformes. El gen PTEN/MMAC1 se localiza en el cromosoma 10 (10q23.3) y la pérdida de heterocigosidad (LOH) del cromosoma 10 es la alteración más frecuente de los glioblastomas. La expresión del gen p53 y/o MIB-1 LI >5% después de resección parcial o MIB-1 L1 >15% después de resección completa también han sido descritos como indicadores de agresividad del tumor y pobre pronóstico de la enfermedad.²¹

Otros hallazgos en tumores intracraneos son: aberraciones en el cromosoma 22; de las cuales, la delección 22q es la más frecuente,^{22,23} ganancias en el cromosoma 1q asociadas con un comportamiento más agresivo, pérdidas en los cromosomas seis, asociada al desarrollo y/o progresión de los ependimomas en niños,²⁴ nueve y 13. Otros hallazgos son pérdidas en los cromosomas cuatro, 10, 11, 16, 17, 19 y 20.²⁵

Es importante subrayar que en el caso de los tumores gliales, tanto la localización como sus alteraciones moleculares son diferentes tanto en niños como adultos, lo que sugiere rutas genéticas distintas en ambos tipos de tumores; por ejemplo, los glioblastomas multiformes (grado IV de la OMS) son más frecuentes en los adultos con una localización supratentorial predominantemente vs los astrocitomas de bajo grado que se presentan más frecuentemente en niños y con predominio infratentorial. Además, se presenta más frecuentemente amplificación/sobreexpresión de EGFR y mutación PTEN en adultos y en niños se observan más frecuentemente mutaciones del p53, así como LOH de los cromosomas 10q, 19q y 22q.²⁶⁻²⁹

A pesar de grandes avances en los últimos 15 años en la sobrevida de estos pacientes, el tratamiento de los gliomas permanece como un gran reto. La resección quirúrgica total de estos tumores infiltrantes es prácticamente imposible y su curso clínico está determinado principalmente por el comportamiento biológico de las células tumorales, que incluye el índice de crecimiento y su respuesta tanto a la quimioterapia como a la

radioterapia. Para predecir dicho comportamiento biológico, ya no basta, el estudio de la morfología tumoral por microscopía de luz, sino que se requiere de un panel completo de estudios de inmunohistoquímica, conocidos ahora como el nuevo portafolio de marcadores moleculares para el mejor entendimiento de éstos tumores.

Aún más, los progresos en biología molecular y genética molecular han mostrado ser un método complementario y eficaz para determinar el comportamiento biológico de los tumores cerebrales a través del estudio de la apoptosis.^{30,31}

La apoptosis o muerte celular programada, que es una forma de suicidio celular genéticamente definida, ocurre de manera fisiológica durante la morfogénesis, la renovación tisular y en la regulación del sistema inmunitario. Se considera que la apoptosis es un mecanismo fisiológico de muerte que se desencadena por diversas señales, las cuales pueden ser fisiológicas o por estímulos exógenos ambientales. Las vías de señalización de la apoptosis son dos: la intrínseca y la extrínseca. La vía intrínseca (mitocondrial) se desarrolla cuando la célula está expuesta a un gran estrés como ocurre cuando se daña la cadena de DNA; la vía extrínseca (citoplasmática) es activada cuando algún ligando pro-apoptótico como Apo2L/TRAIL (familia de los Factores de Necrosis Tumoral) se une a un receptor pro-apoptótico como el DR4 y DR5.³² Tanto la vía intrínseca como la extrínseca convergen en la activación de enzimas intracelulares denominadas caspasas, quienes finalmente llevan a la destrucción de las proteínas celulares y con esto, la muerte de la célula.^{33,34}

El entendimiento de la apoptosis ha sentado las bases de nuevas terapias que pueden inducir la muerte de las células cancerosas o sensibilizarlas contra los agentes citotóxicos y la radioterapia.³⁵ Estos nuevos agentes incluyen aquellos para la vía extrínseca como el ligando del receptor uno del factor de necrosis tumoral y aquellos de la vía intrínseca como los de la familia BCL-2 como oligonucleótidos antisentido.³⁶ El fracaso en la inducción de la apoptosis constituye una de las principales causas de la resistencia a la quimioterapia en los tumores malignos.³⁷

▷ DISCUSIÓN

Con base en que determinados hechos celulares pueden ser explicados por trastornos en la regulación de los genes responsables de la apoptosis, como es el caso de la transformación y progresión tumorales,³⁸ se postula que debe de existir una relación entre la subexpresión en las vías de la apoptosis y la presencia de alteraciones cromosómicas.

El conocimiento actual sobre la apoptosis, como mecanismo regulador y homeostático de los tejidos, ahora explica el desarrollo de tejido neoplásico en la mayoría

de los casos. Cualquier alteración o desbalance en éste mecanismo regulador, ya sea tanto en la vía extrínseca regulada por la familia del TNF (factor de necrosis tumoral y TRAIL) o la vía intrínseca mitocondrial, da como resultado el desarrollo de un tumor.

Recientemente se ha querido canalizar éste conocimiento a fin de desarrollar moléculas que intervengan o favorezcan el desarrollo o estímulo de la apoptosis para tratar varios tipos de cáncer en la edad pediátrica.

Con base en lo comentado, es evidente que el plantear una estrategia terapéutica para un niño con un tumor cerebral, va mucho más allá de la simplicidad de una valoración sustentada en elementos radiológicos e histológicos exclusivamente, sino que se requiere de un estudio integral e individualizado en cada caso, tanto desde el punto de vista clínico, como radiológico, histológico y molecular, con el fin de entender a fondo su comportamiento biológico y a partir de éste momento, poder dirigir de una manera más adecuada, un tratamiento específico y personalizado a cada niño.

REFERENCIAS

1. Compendio del Registro Histopatológico de Neoplasias en México. Morbilidad, regionalización 1993-1996 y mortalidad. Tendencias 1985-1995, México. Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. 1998.
2. Kernohan JW, Mahoon RF. Stadification of the gliomas. Proc Staff Meet Mayo Clin 1949;24:71-75.
3. Rorke LB, Gilles FH, Davis RL. Revision of the World Health Organization classification of brain tumors for childhood. Cancer 1985;56:1869-1886.
4. Starr A, Achar J. Brain system responses in neurologic disease. Arch Neurol 1975;32:761-768.
5. Halperin EC, Watson DM, George SL. Duration of symptoms prior to diagnosis is related inversely to presenting disease stage in children with medulloblastoma: A Pediatric Oncology Group study. J Neuropathol Exp Neurol 2000;59:867-865.
6. Omuro A, Leite C, Mokhtari K, Delattre J. Pitfalls in the diagnosis of brain tumours. Lancet. 2006;5:937-948.
7. Yang P, Berger P, Cohen M. Computed tomography and childhood seizure disorders. Neurology 1979;29:1084-1088.
8. Bloom H. Prospects for increasing survival in children with medulloblastoma: Present and future studies. Neurooncology 1979;1:245-260.
9. Cohen BH, Zeltzer PM, Boyett JM, et al. Prognostic factors and treatment results for supratentorial primitive neuroectodermal tumors in children using radiation and chemotherapy: A children Cancer Group randomized trial. J Clin Oncol 1995;13:1687-1696.
10. López-Aguilar E, Sepúlveda-Vildósola AC, Rivera-Márquez H, et al. Preirradiation ifosfamide, carboplatin and etoposide (ICE) for the treatment of high-grade astrocytomas in children. Childs Nerv Syst 2003;19:818-823.
11. Dohrmann GJ, Farewell JR, Flannery JT. Astrocytomas in childhood: A potential-based study. Surg Neurol 1985;23:64-68.
12. Rutkowski S, Bode U, Deinlein F, et al. Treatment of early childhood medulloblastoma by postoperative chemotherapy alone. NEJM 2005;352:978-986.
13. López-Aguilar, Cerecedo-Díaz, Sepúlveda-Vildósola, et al. Astrocitomas en pediatría. Factores pronósticos y sobrevida. Gac Med Mex 1996;133:231-235.
14. Kleihues P, Burger PC and Scheithauer BW. The new WHO classification of brain tumors. Brain Pathol 1993;3:255-268.
15. Muñoz J, Fan X, Inda MM, et al. Genética molecular de los astrocitomas. ANALES Sis San Navarra 2000;23:265-278.
16. Diedrich U, Lucius J, Bitterman HJ, et al. Loss of alleles in brain tumors: distributions and correlations with clinical course. J Neurol 1995;242:702-711.
17. Figarella-Branger D, Coulibaly B, Quilchini B, et al. Histological and molecular classification of gliomas. Rev Neurol 2008;164:505-515.
18. Armas-Pineda C, Arenas-Huertero F, Pérezpeña-Diazconti M, et al. Expression of PCAF, p300 and Gcn5 and more highly acetylated histone H4 in pediatric tumors. J Exp Clin Cancer Res 2007;26:269-76.

19. Chozik BS, Weicker MB, Pezullo JC, et al. Pattern of mutant p53 expression in human astrocytomas suggests the existence of alternate pathway of tumorigenesis. *Cancer* 1994;73:404-415.
20. Van de Kelft E. Molecular pathogenesis of astrocytoma and glioblastoma multiform. *Act Neurochir Wien* 1997;139:589-599.
21. Zamecnik J, Snuderl M, Eckschlager T, et al. **Pediatric intracranial ependymomas**: prognostic relevance of histological, immunohistochemical and flow cytometric factors. *Mod Pathol* 2003;16:980-991.
22. Carter M, Nicholson J, Ross F, et al. Genetic abnormalities detected in ependymomas by comparative genomic hybridization. *Br J Cancer* 2002;86:929-939.
23. Korshunov A, Neben K, Wrobel G, et al. Gene expression patterns in ependymomas correlate with tumor location, grade and patient age. *Am J Pathol* 2003;163:1721-27.
24. Kramer DL, Parmiter AH, Rorke LB, et al. Molecular cytogenetic studies of pediatric ependymoma. *J Neurooncol* 1998;37:25-33.
25. Biegel JA. Genetics of Pediatric Central Nervous System Tumors. *J Pediatr Hematol Oncol* 1997;19:492-501.
26. Nakamura M, Shimada K, Ishida E, et al. Molecular pathogenesis of pediatric astrocytic tumors. *Neuro Oncology* 2007;9:113-123.
27. Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005;64:479-489.
28. Smith JS, Alderete B, Minn Y, et al. **Localization of common deletion regions on 1p and 19q in human gliomas and their association with histological subtype.** *Oncogene* 1999;18:4144-4152.
29. Von Deimling A, Louis DN, Von Ammon K, et al. Evidence for a tumor suppressor gene on chromosome 19q associated with human astrocytomas, oligodendrogliomas and mixed gliomas. *Cancer Res* 1992;52:4277-4279.
30. Louis DN. A molecular genetic model of astrocytoma histopathology. *Brain Pathol* 1997;7:755-764.
31. Collins VP. Progression as exemplified by human astrocytic tumors. *Semin Cancer Biol* 1999;9:267-276.
32. Ashkenazi A. Targeting death and decoy receptors of the tumor-necrosis factor superfamily. *Nat Rev Cancer* 2002;2:420-430.
33. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998;281:1312-1316.
34. Lavrik IN, Golks A, Krammer PH. Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *J Clin Invest* 2005;115:2665-2672.
35. Reed JC, Huang Z. Apoptosis pathways and drug targets. *Nature Rev Drug Discov* 2004;3:895-910.
36. Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. 2005;55:178-194.
37. Lowe SW, Lin AW. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis* 2000;21:485-495.
38. Ellis RE, Yuan J, Horvitz HR. Mechanisms and function of cell death. *Annu Rev Biol* 1991;7:663-672.

Integración clínica, biológica y molecular en un niño con ependimoma. Informe de un caso

Clinical, molecular and biological behavior in a child with ependymoma

Enrique López-Aguilar,¹ Federico Rojas-Puentes,¹ Ana Paulina Rioscovian-Soto,¹ José Luis Zarate-Alvarado,² Griselda Ramírez,³ Georgina Siordia-Reyes.⁴

▷ RESUMEN

Se presenta el caso de una niña de un año 11 meses de edad, con diagnóstico de ependimoma clásico de fosa posterior, con infiltración a tallo con dimensiones de 10 cm por 10 cm. Se realizó resección parcial y de la muestra del tumor y se realizaron cultivos celulares. Recibió quimioterapia con carboplatino, ifosfamida y etoposido, por un ciclo. Después de nueve días, falleció por presentar progresión tumoral. Se descartó disfunción valvular u otra complicación quirúrgica mediante estudio tomográfico, al igual que complicaciones hematológicas o metabólicas mediante exámenes de laboratorio.

Las células tumorales cultivadas presentaron crecimiento de neuroesferas renovables en cuatro cultivos consecutivos. La histología reportada fue la de un ependimoma clásico y en el presente caso se realiza una integración clínica, histológica y molecular con el comportamiento biológico de un niño con ependimoma clásico, cuya histología era de bajo grado de malignidad.

Se han realizado diversos estudios, los cuales informan sobre el crecimiento de neuroesferas renovables como

▷ ABSTRACT

A case of an ependymoma in children is reported. The patient is a two years old girl diagnosed with classic ependymoma with stem infiltration of 10 x 10 cm, and partial resection of the tumor. Sample cell cultures were realized. Received chemotherapy with carboplatin, ifosfamide and etoposide, achieving only one cycle as nine days after tumor progression dies for filing. Valvular dysfunction was ruled out by surgical complications or other imaging studies, as well as hematological or metabolic by laboratory examinations.

Cultured tumor cells showed growth of renewable neurospheres in four consecutive crops which is associated with tumor histology reported as high grade, and biological behavior manifested by rapid and progressive tumor growth, however in this patient the histopathology report were as low grade tumor.

There have been several studies which report the growth of renewable neurospheres adverse prognostic factor, fast progress. Taking independent prognostic significance of others factors as an age, tumoral grade and some antigen expression, however, according with some prognostic markers like BCL-2, CD-133 and p53 over expression.

1 Jefe del Servicio de Oncología.

2Biólogo molecular. Laboratorio de investigación de tumores cerebrales. 3Servicio de Neurocirugía Pediátrica.

4Servicio de Patología.

Hospital de Pediatría. CMN Siglo XXI, IMSS.

Correspondencia: Dr. Enrique López Aguilar. Av. Cuauhtémoc 330. Colonia Doctores. 06720, México, D. F. Teléfono: 5255 5627 6900, extensión: 22528. Correo electrónico: elopezaguilar@hotmail.com

factor pronóstico adverso, encontrando una rápida evolución tórpida. Teniendo significancia pronóstica e independiente de otros factores como son edad, grado tumoral e inclusive la expresión de algunos antígenos, pero de acuerdo con la expresión algunos marcadores pronósticos como BCL-2, CD-133 y p53.

Palabras clave: Ependimoma, neuroesferas, pronóstico, México.

Keywords: Ependymoma, neurospheres, prognostic, Mexico.

► INTRODUCCIÓN

Antecedentes: Los tumores del SNC son los tumores sólidos más frecuentes en la edad pediátrica, en México la incidencia es de 17 por millón cada año y suceden 560 nuevos casos por año.¹ El ependimoma es el tercer tumor más frecuente en la infancia.²

En la niñez, los tumores cerebrales son biológica e histológicamente heterogéneos y varían de lesiones localizadas de bajo grado a tumores de alto grado con diseminación en el neuroeje.³ La mortalidad en estos casos ha disminuido 23% desde 1975, debido a los avances en el tratamiento con quimioterapia.⁴ Con el desarrollo de nuevas técnicas para diagnóstico inmunohistoquímico y de biología molecular, se ha logrado un mayor conocimiento sobre el comportamiento biológico de los tumores, estableciendo subgrupos morfológicamente similares pero con un diferente comportamiento biológico. En los tumores malignos existe una sobre expresión de ciertos antígenos que le confiere mayor agresividad.⁵ La sobre expresión de Ki67 se relaciona con mal pronóstico en pacientes con tumores de alto grado,⁶ así como también CD133 implica mayor vascularidad y agresividad. Estas y otras alteraciones encontradas se han asociado con la evolución clínica y el resultado histopatológico, encontrando una fuerte relación, lo que nos obliga a continuar con esta línea de investigación.

Recientemente, algunos grupos han logrado encontrar células madre en tumores cerebrales y se han logrado cultivar tanto de tejido cerebral sano como tumoral, con diferencias en la expresión de antígenos.⁷ Con el uso de un modelo para generación de astrocitomas de alto grado, fue posible identificar subpoblaciones celulares concretas dentro del tumor, que eran capaces de transmitir este tumor cuando a nivel clonal se trasplantaban en el cerebro de ratones inmunodeficientes. La

aportación de los tumores cerebrales ha sido decisiva a la hora de aceptar la existencia de células madres tumorales, porque fueron las primeras que se definieron,^{8,9} y porque el avance en la identificación y seguimiento de estos tumores ha permitido su localización en nichos cerca de los tejidos neovasculares formados con el crecimiento del tumor.¹⁰ La posibilidad de identificación nace al obtener un anticuerpo monoclonal que reconocía un antígeno de superficie de las células madre neurales denominado CD-133.¹¹ Se localizaron células CD-133+ en el glioblastoma multiforme y se encontró que era la fracción CD-133+ la que mejor inducía nuevos tumores cerebrales, tras su trasplante en nuevos ratones, al compararla con la fracción CD-133-.⁹ La identificación de células CD-133+/nestina+, permitió descubrir la proximidad de estas células cerca de los capilares nuevos que se forman con el crecimiento del tumor.¹⁰

El crecimiento de las células madre tumorales se identifica mediante la formación de neuroesferas y en algunos estudios se ha demostrado que la formación de estas en tumores malignos tiene un gran peso pronóstico, de tal manera que aquellos que tienen mayor formación de neuroesferas indican rápida progresión tumoral y muerte a corto plazo independientemente de la edad, género y de la expresión del antígeno Ki-67,¹² p53, BCL-2 y otros marcadores inmunohistoquímicos.

El cultivo de estas células se ha estado empleando de manera reciente con resultados muy alentadores en la identificación de nuevos factores pronósticos y nuevas estrategias terapéuticas.

La finalidad de este trabajo es presentar un caso clínico de un paciente quien desarrolla un tumor cerebral de alto grado cuyas células fueron cultivadas mediante este tipo de crecimiento, presentando formación de neuroesferas renovables, lo cual no se relacionó con el resultado histopatológico, pero sí con la evolución clínica fatal rápidamente progresiva.

Figura 1.

Resonancia magnética, con la que se corroboró la presencia de una masa tumoral en fosa posterior, de aproximadamente 10 cm por 10 cm.

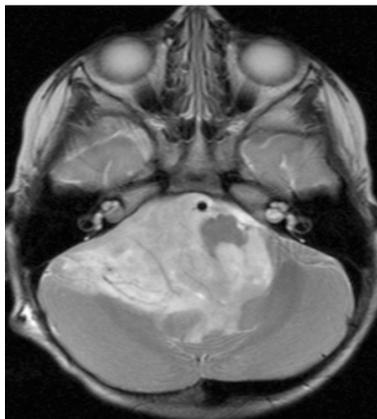


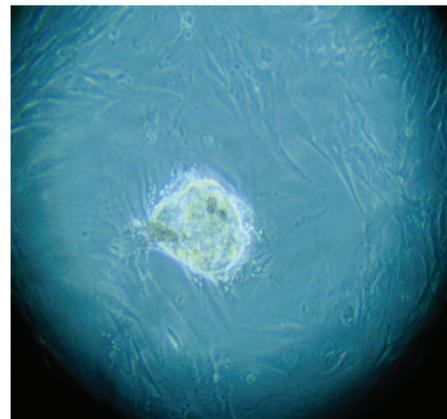
Figura 2.

Resonancia magnética con la que se observa la infiltración al tallo y su extensión por debajo de *foramen magno* hasta la tercera vértebra cervical.



Figura 3.

Imagen de cultivo tumoral, basal.



▷ PRESENTACIÓN DEL CASO

Niña de un año 11 meses de edad, con padecimiento de dos meses de evolución previo a su diagnóstico, con disminución de fuerza muscular de ambas extremidades inferiores, vómito, cefalea y crisis convulsivas, en ese orden de aparición. Se le realizó un estudio tomográfico, con el que se evidenció hidrocefalia secundaria a masa tumoral en fosa posterior. Se colocó válvula de derivación ventriculoperitoneal y posteriormente se realizó resonancia magnética, corroborando masa tumoral en fosa posterior de aproximadamente 10 cm por 10 cm,

que infiltraba el tallo y se extendía por debajo de foramen magno hasta la tercera vértebra cervical (**Figuras 1 y 2**). Los resultados de laboratorio no revelaron alteraciones considerables.

Con base en este diagnóstico, se realizó resección tumoral parcial, con informe de patología de un ependimoma clásico. De la muestra tumoral se realizaron cultivos, encontrando formación de neuroesferas renovables en cuatro cultivos (**Figuras 3 a 6**). Se inició tratamiento con base de carboplatino, ifósfamida y etoposido el 26 de octubre de 2010, sin

Figura 4.

Imagen cultivo tumoral. Posterior a siete días (Pase 1)

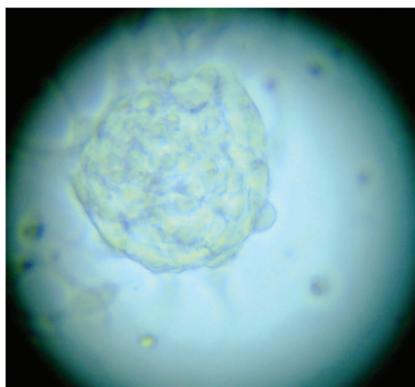


Figura 5.

Imagen cultivo tumoral. Posterior a 15 días (Pase 2)

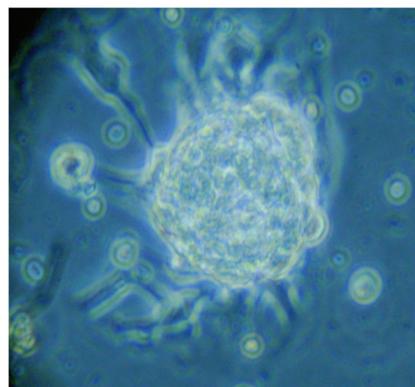


Figura 6.

Imagen cultivo tumoral. Posterior a 18 días (Pase 3)



complicaciones agudas. Se logró su estabilización y una buena recuperación postquirúrgica, por lo que fue posible egresarla. Después de siete días, se ingresó a urgencias por deterioro neurológico progresivo de 12 horas de evolución. Es valorada por neurocirujano descartando disfunción valvular por lo que es manejada con medidas anti edema, ventilación mecánica y aminas vasoactivas sin presentar respuesta favorable al tratamiento. Presentó paro cardiorespiratorio, sin respuesta a maniobras avanzadas y fallece por progresión tumoral ocho horas posterior a su ingreso.

El informe de inmunohistoquímica mostró positividad para CD-133 en 80%; positividad para BCL-2 en 60% así como para Ki-67 en 70% y sobre expresión de p53 en 80% de las células estudiadas.

▷ DISCUSIÓN

El cultivo de neuroesferas en tumores cerebrales ha sido utilizado, encontrando diferentes patrones de crecimiento en relación con el grado de malignidad del tumor. En los primeros estudios realizados, se demostró su capacidad neoplásica al trasplantar estas neuroesferas de células madres tumorales en animales de experimentación, observando crecimiento tumoral de la misma estirpe celular.¹³ La interpretación de esta formación de neuroesferas implica una mayor agresividad de las células madres tumorales, así como una mayor capacidad de diseminación. Trabajos previos han sugerido que, además del crecimiento, la expresión de algunos genes y proteínas, como nestin y CD-133, asociada a las células madres tumorales se relaciona con un pobre pronóstico clínico.¹⁴ Esta correlación entre la formación de neuroesferas y la severidad clínica, empieza a tener un peso en el pronóstico de estos pacientes y pareciera muy consistente; sin embargo, no explica la hipótesis de que el mal pronóstico esté asociado con la actividad de las células madres tumorales cerebrales.¹²

El crecimiento de neuroesferas se ha estado comparando con algunos antígenos de proliferación celular para determinarlo como factor pronóstico. En este sentido, se ha demostrado que las neuroesferas tiene una mayor asociación con el resultado clínico cuando se asocia con el antígeno Ki-67, demostrando la severidad de las células tumorales independientemente del grado tumoral, edad y proliferación celular.^{12,15}

En nuestro caso, se informa sobre la asociación que existe entre la evolución clínica tórpida y el crecimiento de neuroesferas renovables, pero no así con la histología señalada como tumor de bajo grado. En la

bibliografía sí se ha informado sobre la asociación de la mala evolución clínica con el crecimiento de neuroesferas.¹⁵ Estos resultados nos obligan a continuar utilizando estos procedimientos para lograr un mejor conocimiento sobre el comportamiento biológico tumoral. De mayor peso aún es que nuestro paciente haya demostrado positividad para marcadores de mal pronóstico, como el Ki-67, el BCL-2, el CD-133 y la sobre expresión del oncogén p53, lo que nos obliga a realizar un estudio integral del comportamiento biológico del tumor de cada caso en particular de manera individualizada, sin conformarse con el sólo informe histopatológico para plantear una estrategia terapéutica.

En conclusión, consideramos necesario la realización de estudios clínicos siguiendo esta línea de investigación, con la finalidad de establecer nuevos factores pronósticos y dianas para tratamiento dirigido de manera integral para cada niño.

REFERENCIAS

1. Velázquez L, López AE, Fajardo A. Epidemiología de los tumores del sistema nervioso central en niños residentes del Distrito Federal. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1996;53:128-133.
2. López Aguilar E, Sepúlveda Vildósola AC. Prognostic and survival factors among pediatric patients with ependymomas. *Gac Med Mex* 2009;145:7-13.
3. Bailey P, Cushing H. A classification of the tumors of the gliomas group on a histogenetic basis with correlated study of prognosis. Philadelphia: JP Lippincott; 1996.
4. Lopez E, Sepúlveda A, Rivera H, Cerecedo F, Preirradiation ifosfamide, carboplatin and etoposide (ICE) for the treatment of high grade astrocytomas in children. *Childs Nerv Syst* 2003;19:818-823.
5. H Sverre, Granli, S. Unn. Proliferative activity in human glioblastomas assessed by various techniques. *APMIS* 2001;109:865-869.
6. Lopez Aguilar E, Sepúlveda Vildósola A. C. Survival of patients with malignant astrocytomas according to the expression of Ki67 antigen in a pediatric hospital. *Gac Med Mex* 2010;146:118-23.
7. Shingh SK, Clarke ID, Hide T. Cancer stem cells in nervous system tumors. *Oncogene* 2004;23:7267-73.
8. Singh SK, Clarke ID, Terasaki M et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003;63:5821-5828.
9. Singh SK, Hawkins C, Clarke ID et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 2004;432:396-401.
10. Calabrese C, Poppleton H, Kocak M et al. A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell* 2007;1:69-82.
11. Uchida N, Buck DW, He D, et al. Direct isolation of human central nervous system stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97:14720-14725.
12. Dan R. Laks, Michael Masterman-Smith, Koppany Visnyei. Neurosphere formation is an independent predictor of clinical outcome in malignant glioma. *Stem Cells* 2009;27:980-987.
13. Lee J, Kotliarova S, Kotliarov Y, et al. Tumor stem cells derived from glioblastomas cultured in bFGF and EGF more closely mirror the phenotype and genotype of primary tumors than do serum-cultured cell lines. *Cancer Cell* 2006;9:391-403.
14. Mangiola A, Lama G, Giannitelli C et al. Stem cell marker nestin and c-Jun NH2-terminal kinases in tumor and peritumor areas of glioblastoma multiforme: Possible prognostic implications. *Clin Cancer Res* 2007;13:6970-6977.
15. Panosian EH, Laks DR, Masterman-Smith M. Clinical outcome in pediatric glial and embryonal brain tumors correlates with in vitro multi-passageable neurosphere formation. *Pediatr Blood Cancer* 2010;55(4):644-51

Neurotoxicidad por ifosfamida. Informe de un caso y revisión de bibliografía

Ifosfamide neurotoxicity. Case report and literature review

Enrique López-Aguilar,¹ Ana Carolina Sepúlveda-Vildósola,² Ana Paulina Rioscovian-Soto,³ Berenice Aguilar-Román,⁴ Volkmar Wanzke-del Ángel,³ Fernando Cerecedo-Díaz³

▷ RESUMEN

Se presenta el caso de un paciente masculino de 13 años cinco meses que, desde los 12 años, cursó con diagnóstico de tumor neuroectodérmico primitivo. Recibió tratamiento con quimioterapia con base en ifosfamida, cisplatino, VP16 y vincristina con reducción del volumen tumoral en 90%. Completó siete esquemas de quimioterapia. Posteriormente presentó datos de toxicidad neurológica por ifosfamida grado cuatro y a seguir, la muerte. La dosis acumulada de ifosfamida, fue de 36 g/m²SC.

Dentro de los factores de riesgo conocidos para presentar este efecto secundario, tales como hiponatremia, hypoalbuminemia, dosis acumulativa de ifosfamida mayor de 60 g/m²SC, niveles séricos de creatinina, administración de otros fármacos, carcinomatosis pélvica, antecedente de radioterapia al sistema nervioso central y el estado clínico previo del paciente, únicamente presentó hypoalbuminemia, ya que fueron descartadas todas las posibles patologías responsables del deterioro neurológico.

En algunas series, la toxicidad por ifosfamida se informa hasta en 30% a 40% con dosis alta de ésta. La mayor parte de estos informes son en población europea

▷ ABSTRACT

We report a case of a 13 years old male with the diagnosis of peripheral primitive neuroectodermal tumor at the age of 12. He received chemotherapy with ifosfamide, cisplatin, VP16 and vincristin for seven cycles with reduction of the 90% of the tumor mass. After the seven cycle of chemotherapy he presented signs of neurologic toxicity secondary to ifosfamide stage four and finally death, with a cumulative dose of 36 g/m² SC

Among the factors known for this kind of complications we can find hyponatremia, hypoalbuminemia, cumulative dose over 60 g/m², serum creatinine, association with others drugs, pelvic carcinomatosis, central nervous system radiotherapy, none of which the patients presented, except for hypoalbuminemia, other causes were also discarded.

The ifosfamide toxicity is reported in some series up to 30-40% secondary to a high dose, most of the reported cases happen in European and in Asians series, however is unknown de frequency in Latin-American population

Keywords: Neurotoxicity, ifosfamide, chemotherapy, Mexico

1 Jefe del Servicio de Oncología.

2 Directora de Educación e Investigación en Salud.

3 Servicio de Oncología.

4 Servicio de Pediatría.

Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, IMSS.

Correspondencia: Dr. Enrique López-Aguilar. Av. Cuauhtémoc 330. Colonia Doctores. 06720, México, D. F. Teléfono: (52) 55 5627 6900 Extensión: 22528. Correo electrónico: elopezaguilar@hotmail.com

y algunos son de población asiática; sin embargo, no se conoce este dato en Latinoamérica. Se han propuesto diferentes teorías para explicar los mecanismos implicados en la neurotoxicidad de la ifosfamida. Se presenta este caso, así como revisión de la bibliografía.

Palabras clave: Neurotoxicidad, ifosfamida, quimioterapia, México

▷ INTRODUCCIÓN

El tratamiento del cáncer en la edad pediátrica, de manera general ha incrementado la sobrevida hasta en 70% de los casos.

La ifosfamida es un análogo estructural de la ciclofosfamida, la cual se ha asociado a toxicidad mediada por metabolitos tóxicos, debido a que la actividad de CYP3A5 y CYP2B6 presente en el riñón y el hígado, puede producir toxicidad renal a nivel de los túbulos proximales. La inhibición del complejo C-I (NADH-ubiquinona oxido reductasa) a nivel mitocondrial se ha relacionado con elevaciones significativas de NADH, depleción de NAD y disminución del flujo a través de la piruvato deshidrogenasa, sugiriendo que esta inhibición corresponde a la lesión primaria de la nefrotoxicidad. Los defectos en la actividad del complejo C-I pueden resultar en el inicio de la cascada metabólica que exacerba la disfunción mitocondrial que se desarrolla en el tratamiento con ifosfamida.¹ Sin embargo, ésta se ha limitado con la administración conjunta de mercaptoetilsulfonato (MESNA), el cual reacciona con los metabolitos urotóxicos de la ifosfamida; la acroleína y 4-hidroxiifosfamida, con la consecuente detoxificación. Se han buscado diferentes alternativas para prevenir el daño renal, entre las que está la utilización de N-acetilcisteína, ya que en estudios *in vitro* se ha demostrado la depleción intracelular de glutatión con la utilización de ifosfamida, sin alterar la acción antitumoral de ésta.²

Otro de los efectos secundarios asociados al uso de ifosfamida, es la neurotoxicidad. El mecanismo por el que la ifosfamida causa neurotoxicidad es complejo. Se ha sugerido que la cloroetamina, un metabolito de la ifosfamida, está implicado en su patogenia. La cloroetamina se conjuga con la cisteína, formando tialsina que se metaboliza a tialsina ketimina, que inhibe la unión de

electrones a flavoproteínas y, como consecuencia, la respiración mitocondrial. La consecuencia es la acumulación de NADH y la prevención de la inactivación de cloroacetaldehído a un metabolito neurotóxico de la ifosfamida. Este hecho se confirma por que los síntomas relacionados con la encefalopatía por ifosfamida son similares a los típicos de intoxicación por alcohol, por el acetaldehído un metabolito neurotóxico del etanol.³

El cuadro clínico que se presenta después de la administración de ifosfamida, varía desde datos clínicos como somnolencia, letargia, irritabilidad, excitación, desorientación, confusión, debilidad, asterixis, alucinaciones y crisis convulsivas, hasta signos clínicos graves, como la degeneración del cerebelo, atrofia cerebral, dolor secundario a neuropatía periférica, y degeneración subaguda del sistema nervioso central. Incluso existen reportes de trastornos del movimiento como hemibalismo, corea o atetosis en pacientes pediátricos.⁴ La aparición de estos síntomas se ha observado desde el inicio del tratamiento, de dos a 48 horas después del inicio de la infusión de ifosfamida, hasta uno a tres días después.⁵ Sin embargo, se han descrito secuelas psicológicas a largo plazo, hasta 10 semanas después de la administración de la ifosfamida. Las anomalías en el electroencefalograma reportan una encefalopatía difusa.⁶

El objetivo del presente estudio es presentar un caso de un paciente pediátrico que desarrolló neurotoxicidad y muerte por ifosfamida, lo cual, es poco frecuente en la población latina, en contraste a lo que se reporta en la población europeos, así como hacer el análisis de las diferentes causas.

▷ PRESENTACIÓN DEL CASO

Hombre de 13 años cinco meses, que inició su padecimiento oncológico a los 12 años, cuando le fue

diagnosticado un tumor neuroectodérmico primitivo en el piso pélvico. Se inició quimioterapia con base en ifosfamida, cisplatino y VP16 más vincristina, con reducción de 90% del volumen tumoral. Posterior al sexto curso de quimioterapia, presentó datos de nefrotoxicidad, motivo por el que se inició terapia de remplazo, con sustitución oral de electrolitos y bicarbonato, aparentemente con adecuado control. Recibió el séptimo esquema de quimioterapia y posterior al término de este ciclo, la dosis acumulada de ifosfamida fue de 36 g/m² SC. Las pruebas de función renal fueron normales, con niveles séricos de creatinina de 1.2 mg/dL. Se identificó hipoalbuminemia de 2.3 g/dL que disminuyó hasta 1g/dL durante su estancia hospitalaria.

Un día después del término de este ciclo, de forma súbita presentó afasia y sialorrea, sin respuesta a estímulos externos, así como hipotonía y alteraciones en su estado de alerta, con disminución de tres puntos en la escala de Glasgow. Evolucionó con anisocoria, flexión de miembro pélvico derecho; mantuvo automatismo ventilatorio, sin datos de meningismo ni afeción de los pares craneales. Sus signos vitales se mantuvieron en límites normales para su edad y sexo, sin presentar desequilibrios hidroelectrolíticos. Se realizó electroencefalograma que mostró actividad de base anormal, alteraciones de la frecuencia, amplitud y disfunción córtico y subcortical, así como una serie de afeción encefálica difusa de naturaleza estructural, ondas lentas delta-theta, de bajo voltaje. La resonancia magnética mostró atrofia córtico-subcortical generalizada, sin alteraciones en la sustancia blanca.

Un día después, presentó mioclonías en ambas extremidades inferiores. Se inició tratamiento con fenitoína. Posteriormente se agregaron pausas respiratorias y midriasis bilateral, por lo que se inició asistencia mecánica ventilatoria y se trasladó a la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos. Se realizó punción lumbar que descartó neuroinfección. Su evolución clínica fue hacia el deterioro, sin respuesta a apoyo con aminas. El paciente falleció a las 72 horas posteriores al inicio del deterioro neurológico inicial.

▷ DISCUSIÓN

La neurotoxicidad es un efecto asociado a la administración de ifosfamida, hecho que se ha señalado hasta en 30 a 40% de los pacientes que reciben dosis alta de ésta. Estudios en población pediátrica francesa, describen casos de pacientes pediátricos que presentaron encefalopatía asociada a la administración de ifosfamida.⁷ En el estudio de Kerdudo y colaboradores, mencionan una forma atípica de presentación, con manifestaciones psiquiátricas en niños y adolescentes.⁸ En bibliografía asiática, también

existe referencia sobre este efecto adverso. Sin embargo, en la literatura biomédica hispana, únicamente se ubican informes de casos en pacientes españoles, en los que la neurotoxicidad se relaciona con factores predisponentes para ésta patología.⁹

En el estudio de Zieli ska y colaboradores, se realizó un estudio en 76 niños polacos que fueron tratados con ifosfamida, para estudiar el rol que juegan las enzimas glutatión transferasa (GSTM1, GSTT1 y GSTP1) en el metabolismo de la ifosfamida. Se trata de enzimas responsables de la activación o detoxificación de compuestos electrofilicos, tales como los metabolitos tóxicos de la ifosfamida. Los subtipos *mu*, *pi* y *tetha* son codificados por polimorfismos de los genes GSTM1, GSTP1 y GSTT1. La supresión del que codifica para la clase *mu* del GST y GSTT1 se ha identificado hasta en 50% de la población caucásica. La supresión del gen GSTT1 ocurre en aproximadamente 20% de los europeos y en 60% de los asiáticos. En este estudio se observó que además de la dosis total de ifosfamida y la coadministración de otros fármacos, los polimorfismos en el gen GSTP1 puede ser uno de los determinantes de la neurotoxicidad.¹⁰ No tenemos informes en la literatura hispanoamericana acerca de estos datos.

Dentro de los factores predisponentes para el desarrollo de neurotoxicidad, están: hipoalbuminemia menor de 3.3 g/dL, hiponatremia, la edad del paciente, dosis acumulativa de ifosfamida, los niveles séricos de creatinina, administración de otros fármacos, carcinomatosis pélvica, antecedente de radioterapia al sistema nervioso central, así como el estado clínico previo del paciente.¹¹

Nuestro paciente cursó con hipoalbuminemia muy por debajo de los valores mencionados en la bibliografía como factor de riesgo para desarrollar neurotoxicidad. Llegó hasta valores de 1mg/dL. Se menciona que la hipoalbuminemia es el factor con mayor peso; que los valores séricos de creatinina y la dosis acumulativa de ifosfamida, con OR de 4.3 según algunos estudios.¹² Se cree que la ifosfamida, en presencia de hipoalbuminemia, puede llegar a ser tóxica por sus efectos sobre la función hepática y de forma secundaria en el metabolismo de ésta, su metabolito neurotóxico es una proteína obligada, por lo que la disminución en los niveles de albumina permite su paso en el sistema nervioso central. Es cierto que, la función renal previa, el antecedente de deterioro en la función renal o incluso nefrectomía, se han visto implicados en el desarrollo de neurotoxicidad, sin que existan datos claros en este respecto. En este caso, el grado de encefalopatía alcanzó el grado cuatro y, tal y como se informa en la bibliografía, no se evidenciaron cambios en los estudios de imagen que se le practicaron.

En cuanto a la dosis acumulativa de ifosfamida, se señala que se han presentado datos de neurotoxicidad cuando esta excede los 60 g/m² SC. En nuestro paciente, sólo había acumulado 36 g/m², aunque es sabido que la neurotoxicidad puede presentarse desde el primer curso. Sin embargo, no contamos con estudios en pacientes pediátricos latinoamericanos en los que reporten las cifras acumulativas de ifosfamida para causar neurotoxicidad, ni del porcentaje con el que esta complicación se presenta.

Para tratar y prevenir la neurotoxicidad inducida por ifosfamida, dos compuestos han sido comúnmente utilizados: el azul de metileno y la tiamina.¹³

Este informe cobra aun más valor, ya que existen muy pocos casos descritos en pacientes pediátricos en América Latina. Esto en parte, puede deberse a las diferencias genéticas señaladas en el metabolismo de la ifosfamida, de las cuales desconocemos la frecuencia exacta con la que se presenta. En nuestro país, y en América Latina, existe un subregistro de los casos de cáncer y de las complicaciones que surgen en el tratamiento de éste, por lo que es difícil asegurar que se debe por completo a estas diferencias genéticas. Sin embargo, no es un fenómeno que se presente con frecuencia en ésta población, incluso en este reporte de caso se observa que en los ciclos previos no se presentaron datos de neurotoxicidad y que ésta no fue secundaria a otros factores de riesgo. Nuestro hospital, es un centro de referencia en el país, siendo la ifosfamida uno de los fármacos más utilizados en los esquemas de quimioterapia que se aplican. La neurotoxicidad es una

complicación que no se ha presentado en el porcentaje de pacientes reportados en la literatura internacional, lo que nos hace suponer que esta población debe tener características diferentes a la población europea y los mecanismos descritos anteriormente pudieran estar en relación a estas diferencias.

REFERENCIAS

1. Nissim I, Horyn O, Daikhin Y, et al. Ifosfamide-induced nephrotoxicity: mechanism and prevention. *Cancer Res* 2006;66:7824-31.
2. Chen N, Aleksa K, Woodland C, et al. Prevention of ifosfamide nephrotoxicity by N-acetylcysteine: clinical pharmacokinetic considerations. *Can J Clin Pharmacol* 2007;14:246-50.
3. Di Cataldo A, Astuto M, Rizzo G, et al. Neurotoxicity during ifosfamide treatment in children. *Med Sci Monit* 2009;15:CS22-5.
4. Ames B, Lewis LD, Chaffee S, et al. Ifosfamide-induced encephalopathy and movement disorder. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;54:624-6.
5. Bruggers CS, Friedman HS, Tien R, DeLong R. Cerebral atrophy in an infant following treatment with ifosfamide. *Med Pediatr Oncol* 1994;23:380-3.
6. Ajithkumar T, Parkinson C, Shamshad F, Murray P. Ifosfamide encephalopathy. *Clin Oncol* 2007;19:108-14.
7. Dufour C, Grill J, Sabouraud P, et al. Ifosfamide induced encephalopathy: 15 observations. *Arch Pediatr* 2006;13:140-5.
8. Kerdudo C, Orbach D, Sarradet JL, Doz F. Ifosfamide neurotoxicity: an atypical presentation with psychiatric manifestations. *Pediatr Blood Cancer* 2006;47:100-2.
9. Ramos Linares S, Breña Atienza J, Cháfer Rudilla M, et al. Severe ifosfamide-induced neurotoxicity: a case report. *Pharm World Sci* 2010;32:109-11.
10. Zieli ska E, Zubowska M, Misiura K. Role of GSTM1, GSTP1, and GSTT1 gene polymorphism in ifosfamide metabolism affecting neurotoxicity and nephrotoxicity in children. *J Pediatr Hematol Oncol* 2005;27:582-9.
11. David KA, Picus J. Evaluating risk factors for the development of ifosfamide encephalopathy. *Am J Clin Oncol* 2005;28:277-80.
12. David KA, Picus J. Evaluating risk factors for the development of ifosfamide encephalopathy. *Am J Clin Oncol* 2005;28:277-80.
13. Giovanis P, Gama A, Marcante M, et al. Ifosfamide encephalopathy and use of methylene blue. A case report of different sequential neurotoxicity. *Tumori* 2009;95:545-6.

Aceptación de cesión de la propiedad de los derechos de autor



(Este formato debe ser enviado con todos los manuscritos sometidos a consideración y debe ser firmado por todos los autores del mismo)

“Los autores que firman al calce están de acuerdo con transferir la propiedad de los derechos de autor del manuscrito titulado:

a la Sociedad Mexicana de Oncología, en el caso de que éste sea aceptado para su publicación. Los autores están de acuerdo también que, en caso aceptado, la Sociedad Mexicana de Oncología publique el artículo en un número subsiguiente de la Gaceta Mexicana de Oncología, así como en cualquier otro medio de difusión electrónica. Estos autores declaran que están enterados y de acuerdo con el orden de autoría señalado en el manuscrito original, que tuvieron una participación en el estudio como para responsabilizarse públicamente de él y que aprobaron la versión final del manuscrito enviado a la Gaceta Mexicana de Oncología. Estos autores aseguran que el trabajo sometido es original; que la información contenida, incluyendo Tablas, Imágenes y fotografías, no han sido publicadas previamente o está en consideración en otra publicación; que de ser publicado no se violarán derechos de autor o de propiedad de terceras personas y que en su contenido no constituye una violación a la privacidad de los individuos en estudio. Estos autores afirman que los protocolos de investigación con seres humanos o con animales recibieron aprobación de la(s) institución(es) donde se realizó el estudio”.

Autor responsable	(1) _____ (nombre completo)	_____ (firma)
Otros Autores	(2) _____ (nombre completo)	_____ (firma)
	(3) _____ (nombre completo)	_____ (firma)
	(4) _____ (nombre completo)	_____ (firma)
	(5) _____ (nombre completo)	_____ (firma)
	(6) _____ (nombre completo)	_____ (firma)

Fecha: _____



SMO

Sociedad Mexicana de Oncología, A.C.

www.smeo.org.mx

SOCIEDAD MEXICANA DE ONCOLOGÍA, A.C.

GACETA MEXICANA DE ONCOLOGÍA

NORMAS PARA LOS AUTORES

1. La Gaceta Mexicana de Oncología publica artículos en español de autores nacionales o extranjeros, previamente aprobados por el Comité Editorial de la Sociedad Mexicana de Oncología.
2. Los artículos podrán ser enviados al correo electrónico smeo@prodigy.net.mx o directamente a la oficina de la gaceta. En este caso se entregará en original impreso del manuscrito y dos copias fotostáticas, así como archivo electrónico en CD marcado con nombre del trabajo y software utilizado. En ambos casos deberá incluirse el formato de cesión de los derechos de autor (firmado por todos los autores en original), que aparece publicado en la propia gaceta, en el cual hace constar que el artículo es inédito.
3. **Conflictos de intereses.** Los autores deben declarar en el manuscrito, cualquier tipo de relaciones económicas o de otra naturaleza que puedan haber influido en la realización del proyecto y en la preparación del manuscrito para su publicación.
4. El texto debe elaborarse en computadora, a doble espacio, margen de 2.5 cm por lado, fuente tipográfica Times New Roman a tamaño de 12 puntos.
5. La extensión máxima de los trabajos es: editorial: 5 cuartillas y 5 referencias; artículo original: 20 cuartillas hasta 6 figuras, 6 cuadros y 45 referencias; caso clínico: 10 cuartillas, hasta seis figuras y 30 referencias; artículo de revisión o monografía: 15 cuartillas, hasta 6 figuras, 6 cuadros y 45 referencias; artículo sobre historia de la medicina: 15 cuartillas, hasta 6 figuras y 45 referencias; carta al editor: 1 cuartilla, 1 figura, 1 cuadro y 5 referencias.

EL MANUSCRITO COMPRENDE:

- 5.1 **Página frontal:** títulos en español e inglés y títulos cortos (máximo 8 palabras), nombre y apellidos del o los autores máximo seis, incluyendo el autor principal, institución de adscripción y cargo desempeñado, dirección postal completa (calle, colonia, delegación o municipio, estado, país y código postal), teléfono fijo (incluyendo

clave LADA), celular (solo para uso de la Gaceta) y fax, así como e-mail del primer autor o del autor al que se dirigirá la correspondencia.

- 5.2 **Resúmenes** estructurados en español e inglés, donde las entradas de los párrafos son análogas a las partes del artículo (introducción, material y métodos, etc.). Cada resumen no debe exceder las 250 palabras.

- 5.3 **Palabras clave** en español e inglés (key words) conforme los términos aceptados en el MeSH (*Medical Subject Headings*); para obtenerlas puede consultarse la dirección <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.htm>

- 5.4 **Texto del artículo** original integrado por las siguientes secciones:

- Introducción (antecedentes, objetivos e hipótesis)
- Material y métodos (aspectos éticos y pruebas estadísticas) o caso clínico (según corresponda)
- Resultados
- Discusión aspectos más importantes del trabajo)
- Conclusiones
- Agradecimientos
- Referencias
- Cuadros o figuras. Se utilizará el término figura para indicar por igual ilustraciones, esquemas, fotografías y gráficas y la palabra cuadro para citar indistintamente cuadros y tablas.

6. Cada hoja del escrito debe llevar en el ángulo superior izquierdo el apellido paterno e iniciales del segundo apellido y del nombre del primer autor, y en el ángulo superior derecho la numeración de las cuartillas (v.gr.:1/20, 2/20...).
7. Cada trabajo debe acompañarse de 3 juegos de las ilustraciones o fotografías correspondientes (al ser entregado en la oficina de la gaceta). Los esquemas deben dibujarse profesionalmente y entregarse en original o versión electrónica en el formato original en que fueron elaborados (v.gr.: PowerPoint o Word).

8. Es conveniente anexar fotografías clínicas en color siempre que se disponga de ellas. cada fotografía impresa llevará al reverso una etiqueta que indique el número, posición de la imagen, título del trabajo y nombre del autor principal. Cuando se anexasen fotografías en versión electrónica debe considerarse lo siguiente:
 - El formato debe ser TIFF o JPG (JPEG)
 - Solo si el tamaño real de las imágenes resulta excesivo, las imágenes deben reducirse a escala; dada la pérdida de resolución, no deben incluirse imágenes que requieran aumento de tamaño.
 - La resolución mínima aceptable es de 300 dpi. Si las fotografías son obtenidas directamente de cámara digital, la indicación debe ser «alta resolución».
9. Se debe señalar en el texto el lugar donde se incluirán las imágenes.
10. Dentro del archivo de texto deben aparecer los cuadros y pies de figura; las ilustraciones, esquemas y fotografías deben ir en archivos individuales.
11. Cuando los cuadros o figuras sean obtenidos de otra publicación deberá entregarse carta de autorización de la editorial que los publicó o del titular de los derechos de autor.
12. Para las notas al pie de página se deben utilizar símbolos convencionales. Las siglas o abreviaturas se especificarán también en los pies de los cuadros/figuras, no obstante haber sido mencionadas en el texto.
13. Las referencias deben numerarse progresivamente según aparezcan en el Texto, en estricto orden cronológico ascendente; el número correspondiente deberá registrarse utilizando superíndices. Deben omitirse las comunicaciones personales y se anotará “en prensa” cuando un trabajo ha sido aceptado para publicación en alguna revista; en caso contrario referirlo como “observación no publicada”. No usar la opción automática para la numeración.
14. Cuando los autores de las referencias son seis o menos deben anotarse todos; cuando son siete o más se indican los seis primeros seguidos de “y cols” o “et al”.
15. Las referencias deberán ser incluidas según las normas de Vancouver vigentes.

ALGUNOS EJEMPLOS DE REFERENCIAS:

Publicación periódica:

You Ch, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-314.

Libro

Murray PR, Rosenthal KS, Konbayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 4 th ed. St Louis, MO: Mosby; 2002; p. 210-221.

Capítulo de libro:

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. En: Volgestein B, Kinzler KW, editores. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill;2002. p. 93-113.

Base de datos o sistemas de recuperación en internet:

Online Archive of American Folk Medicine. Los Angeles: Regents of the University of California 1996. [Consultado en 2007, febrero 1]. Disponible en <http://www.folkmed.ucla.edu/>

Artículos de revistas en internet:

Kaul S, Diamond GA. Good enough: a primer on the analysis and interpretation of noninferiority trials. *Ann Intern* 2006 Jul 4;145(1):62-69. Disponible en <http://www.annals.org/reprint/145/1/62.pdf>

Información obtenida en un sitio de internet:

Hooper JF. Psychiatry and the Law: Forensic Psychiatric Resource Page. Tuscaloosa (AL): University of Alabama, Department of Psychiatry and Neurology; 1999 Jan 1. [Actualizado en 2006, Jul 8; consultado en 2007, Feb 23]. Disponible en <http://bama.ua.edu/~jhooper/>

Para información complementaria de estas normas para los autores, se recomienda consultar la última versión de *Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication* (octubre 2008), del *International Committee of Medical Journals Editors*, en las direcciones electrónicas:

www.icmje.org;

www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

16. Los trabajos no aceptados se devolverán al autor principal con un anexo explicando el motivo.
17. *La Gaceta Mexicana de Oncología* enviará al autor principal 10 ejemplares del número donde aparecerá su artículo.
18. Los trabajos que se envíen por correo o mensajería deberán ir en sobre dirigido a:

Dr. Francisco Javier Ochoa Carrillo

Editor en Jefe

Gaceta Mexicana de Oncología

Sociedad Mexicana de Oncología

Tuxpan No. 59 PH

Col. Roma

Del. Cuauhtémoc, 06760, México, D. F.

Teléfonos: 5574 1454; 5574 0706

Fax: 5584 1273

E-mail: smeo@prodigy.net.mx



SMEO

Sociedad Mexicana de Oncología, A.C.

www.smeo.org.mx

SOCIEDAD MEXICANA DE ONCOLOGÍA, A.C.

GACETA MEXICANA DE ONCOLOGÍA

Guidelines for Authors

1. The Gaceta Mexicana de Oncología (GAMO, Mexican Oncology Gazette) presents articles written in Spanish by Mexican and foreign authors. Published articles have been approved by the Editorial Committee of the Mexican Oncology Society.
 2. Articles can be sent via e-mail to smeo@prodigy.net.mx or directly to the Gazette office. When sent to The Gazette office, you must include the original manuscript plus two Xerox copies, and the corresponding electronic document in CD, labeled with the article's title and an indication of the used software. In both cases, the format for copyright cession, original signed by all authors, must be included; this format is included in every issue of the Gazette and has a clause to declare that the article hasn't been published before.
 3. Conflicts of interest. The authors should state in the manuscript, any kind of economic or other nature that may have influenced the implementation of the project and in preparing the manuscript for publication.
 4. Text must be prepared by computer, using double-spaced typing, 2.5 cm margins in the four sides, in 12 points Times New Roman type.
 5. Maximum lengths of the articles are: Editorials, 5 pages (1700 characters each one) and 5 bibliography references; original articles, 20 pages, and no more than 6 Figures and 45 references; clinical cases, 10 pages, and no more than 6 Figures, 6 Tables, and 30 references; monographs or bibliography revision articles, 15 pages, and no more than six Figures and 45 references; articles on Medicine History, 15 pages, and no more than 6 Figures and 45 references; letters to the Editor, 1 page, 1 Figure, 1 Table, and 5 references.
- AN ARTICLE INCLUDES:**
- 5.1. Front page: Short titles in Spanish and English (maximum 8 words); name (or names) and complete surname of the author or authors (no more than 6 authors, including main author); name of the institution to which he (they) is (are) ascribed, specifying his (their) position in it; complete address (street, home or registered office number, community, municipality, city, country, ZIP code), phone number (including IDD or Country phone code), cell phone (to be used only by the Gazette office), and fax number, as well as the main or the corresponding author's e-mail address.
 - 5.2. Abstract, written in both Spanish and English languages, with analogue paragraphs to each section of the article (Introduction, Material and Methods, and so on). The Abstract maximum length will be 250 words and will have no abbreviations or acronyms and references.
 - 5.3. Key words, both in English and Spanish languages (Palabras clave), according to the terms established in MeSH (Medical Subject Headings); you will find such terms in <http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.htm>
 - 5.4. Text of the original article, including the following sections:
 - Introduction (history, objectives or goals, and hypothesis)
 - Material and methods (ethic issues and statistical tests) or clinical case (as needed) • Outcomes
 - Discussion (main features of the article) • Conclusions
 - Acknowledgments
 - References
 - Tables and/or Figures. The word *imagen* will refer to drawings, diagrams, photos or graphs, and the word *tabla* will be used for both numeric and text tables.
 6. In all manuscript pages should be the main author's name and surname with the middle name initial (in Hispanic names, use whole name and first surname with second name initial), in the left superior angle; in the right superior angle should be page numbers (v.gr.: 1/20, 2/20...).
 7. Every article must be sent with 3 copies of all Figures or photographs included (when delivered at the Gazette office). Diagrams should be professionally drawn and the originals presented in paper or in the computer program in which they have been prepared (v.gr. PowerPoint or Word).

8. It will be better to present color clinical photos, if available. All photos should be labeled on the back side, indicating Figure number, article name, image localization in the body of the article, and main author's name and surname. For electronic version of photos consider the following:
 - They should be presented in TIFF or JPG (JPEG) format
 - When real size is too large, present scale reductions; don't include photos that would need to be amplified, because of resolution losses.
 - Minimal acceptable resolution is 300 dpi. Digital photos should be done in high resolution and must weight no less than 1 Mega
9. In the text should be indicated the point where images will be included.
10. Text should include Tables and Figures foots, with Figures presented apart, in individual documents.
11. When Tables and Figures are reproduced from another publication, they must be accompanied by the corresponding written authorization to do so, obtained from the original editor or copyright owner.
12. Use conventional symbols for footnotes. Abbreviations and initials used should be explained at Tables/Figures foots, even if they are explained in the body text.
13. References should be progressively numbered, as they appear in the text; reference numbers should be in superscript form (with no parenthesis or brackets), after punctuation marks. Personal communications should be omitted, and the indication "in press" will be added when the quoted article has been accepted for publication; otherwise, the note will be "unpublished work". Don't use Word's automatic numbering system.
14. When there are six or less authors, all of them must be mentioned; when there are more than six authors, include the first six and add "et al" (in Spanish, "y cols.").
15. References should be presented according to in force Vancouver norms.

REFERENCES EXAMPLES:

Regular publication:

You Ch, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980;79:311-314.

Book:

Murray PR, Rosenthal KS, Konbayashi GS, Pfaller MA. *Medical microbiology*. 4 th ed. St Louis, MO: Mosby; 2002; p. 210-221.

Book chapter:

Meltzer PS, Kallioniemi A, Trent JM. Chromosome alterations in human solid tumors. En: Volgestein B, Kinzler KW, Eds. *The genetic basis of human cancer*. New York: McGraw-Hill; 2002. p. 93-113.

Data base or Internet data recuperation systems:

Online Archive of American Folk Medicine. Los Angeles: Regents of the University of California 1996. [Accessed in February 1, 2007]. Available in <http://www.folkmed.ucla.edu/>

Magazine articles published in Internet:

Kaul S, Diamond GA. Good enough: a primer on the analysis and interpretation of noninferiority trials. *Ann Intern* 2006 July 4;145(1):62-69. Available in <http://www.annals.org/reprint/145/1/62.pdf>

Information obtained from an Internet site:

Hooper JF. Psychiatry and the Law: Forensic Psychiatric Resource Page. Tuscaloosa (AL): University of Alabama, Department of Psychiatry and Neurology; 1999 Jan 1. [Updated in Jul 8, 2006; accessed in Feb 23, 2007]. Available in <http://bama.ua.edu/~jhooper/>

For supplementary information on these authors' norms, it's recommended to consult the last version of Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication (October 2008), by the International Committee of Medical Journals Editors, in these electronic addresses: www.icmje.org; www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Html

16. If an article is not accepted, it will be returned to main author, with an adjunct letter explaining the reasons.
17. The Gaceta Mexicana de Oncología will deliver 5 copies of the issue where the article was published to main author.
18. Articles sent by mail or a messenger company should be in an envelope addressed to:

Dr. Francisco Javier Ochoa Carrillo

Editor en Jefe

Gaceta Mexicana de Oncología
Sociedad Mexicana de Oncología
Tuxpan No. 59 PH
Col. Roma

Del. Cuauhtémoc, 06760, México, D. F.

Teléfonos: 5574 1454; 5574 0706

Fax: 5584 1273

E-mail: smeo@prodigy.net.mx