

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
CENTRO MEDICO NACIONAL "SIGLO XXI"
HOSPITAL DE PEDIATRIA**

TESIS DE POSGRADO

**COMPORTAMIENTO BIOLOGICO DE LOS EPENDIMOMAS EN EDAD
PEDIATRICA DE ACUERDO A SU LOCALIZACION, HISTOLOGIA Y
ALTERACIONES CROMOSOMICAS**

**PARA OBTENER EL TITULO DE ESPECIALISTA EN
ONCOLOGIA PEDIATRICA**

PRESENTA

DRA. LILIANA ELIZABETH ORTIZ SUAREZ

TUTORES

DR. JAVIER ENRIQUE LOPEZ AGUILAR

DR. HUGO F. RIVERA MARQUEZ

COLABORADORES

DR. DIEGO ARENAS ARANDA

DRA. GEORGINA SIORDIA REYES

MEXICO, D. F.

DICIEMBRE 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

	Número de página
INTRODUCCION	3
JUSTIFICACIÓN	9
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
OBJETIVOS	11
MATERIAL Y MÉTODOS	12
RESULTADOS	16
DISCUSION	18
CONCLUSIONES	21
BIBLIOGRAFIA	22
ANEXO I	25
ANEXO II	26
ANEXO III	28
ANEXO IV	29
ANEXO V	30
ANEXO VI	31
ANEXO VII	32
ANEXO VIII	33
ANEXO IX	34
ANEXO X	35
ANEXO XI	36

INTRODUCCION

La incidencia de los tumores del sistema nervioso central (SNC) en la edad pediátrica en México es de 17 casos por millón en menores de 15 años.

Los ependimomas constituyen un importante grupo dentro de los tumores cerebrales, ocupando el tercer lugar en frecuencia. Y representan entre el 8% y 10% de los casos en la mayoría de las series internacionales publicadas ¹. Estos tumores tienen la capacidad de originarse en cualquier lugar del sistema ventricular o del canal espinal, aunque el sitio más común es en la fosa posterior; seguido de el nivel supratentorial, en una relación 2:1. Entre ambas localizaciones abarcan el 90% de los casos reportados. Y en el 10% restante ocurren en el neuroeje.

Los niños tienen la incidencia más elevada de ependimomas con edad de presentación más frecuente en menores de 5 años (50% de los casos) y los de neuroeje, es raro encontrarlos en niños menores de 12 años. Una edad joven al diagnóstico está asociada con un pronóstico desfavorable en algunos estudios y puede ser reflejo de una localización infratentorial y de la morbilidad a largo plazo por radioterapia en niños pequeños ². Son el glioma más frecuente de la médula espinal y esta localización es más común en adultos.

En los últimos 30 años, los porcentajes de supervivencia para el Ependimoma se han incrementado debido a la mejoría en las técnicas quirúrgicas y tratamiento post quirúrgico. Sin embargo, esta mejoría se retrasa por el pobre entendimiento de la patogénesis molecular del Ependimoma.

El pronóstico difiere en los tumores intracraneales y los de médula espinal. La resección quirúrgica seguida de la quimioterapia y/o radioterapia son los tratamientos más comunes para los tumores intracraneales, pero los pacientes frecuentemente recaen. La supervivencia global y la supervivencia libre de enfermedad y progresión a 5 años son del 50% al 60% y del 30% al 50%, respectivamente. Los pacientes con tumores localizados en médula espinal tienen usualmente un pronóstico favorable después de la resección macroscópica total, mientras que la progresión del tumor local es la causa principal de muerte en pacientes con ependimomas intracraneales, resultando una supervivencia global a 5 años del 60%. Por el contrario, la recurrencia es rara para los ependimomas localizados en la médula espinal y la resección macroscópica total utilizando microscopía quirúrgica, no necesita ser tratada con terapia adyuvante.

Existen estudios que apoyan la creencia de que la clasificación de los ependimomas basada en sus características citogenéticas, puede ayudar a la identificación útil de un marcador pronóstico y proveer pistas para el entendimiento del desarrollo de estos tumores. Y evidencian, además, que los ependimomas intracraneales y de médula espinal podrán ser subdivididos ³.

Los ependimomas fueron agrupados en celulares, epiteliales y mixopapilares, de acuerdo a los criterios microscópicos establecidos en 1937 por Kernohan. Sin embargo, como esta variabilidad histológica no predecía alguna forma de comportamiento biológico, más adelante tuvieron que ser estratificados sobre la base del grado de anaplasia relacionándolos con el tiempo de supervivencia posterior a la cirugía (Mabon, 1949).

La agresividad biológica se clasifica en grados de malignidad como grado I, subependimoma (intraventricular y frecuentemente sintomático) y Ependimoma mixopapilar que frecuentemente ocurre en la cauda equina. Los ependimomas grado II, que tienen un número de variantes histopatológicas, muestran zonas evidentes de un fenotipo celular ependimario (por formación de rosetas ependimarias y algunas veces en canales). Las pseudo rosetas peri vasculares se identifican más comúnmente pero no son específicas para los ependimomas.

El sistema de clasificación histológica actual y más frecuentemente utilizada por la Organización Mundial de la Salud (O. M. S., 2000), reconoce dos variantes principales en niños: Ependimoma clásico (grado II) y Ependimoma anaplásico (grado III). Sin embargo, a pesar de numerosos estudios, la relación entre el grado histológico y la agresividad del tumor permanece incierta ².

Los ependimomas de grado II de malignidad son diferentes de los de grado III en base al bajo porcentaje mitótico y bajo nivel de polimorfismo nuclear, pero la línea límite entre ambos permanece aún sin definirse. La necrosis y la proliferación micro vascular no tienen el mismo significado en este tipo de tumor como en los tumores astrocíticos del adulto. La mayoría de los ependimomas (grado II de malignidad) muestran inmunoreactividad para la proteína glial ácida fibrilar (*GFAP*), proteína S-100 y al antígeno de membrana epitelial (*EMA*)⁴.

Los datos que se relacionan más con el pronóstico en los pacientes con ependimomas son el incremento en la celularidad así como el incremento en la actividad mitótica.

El éxito de toda la histopatología es proveer, en base al análisis del tejido tumoral, la mayor información como sea posible para el clínico, informándolo de todos los detalles para cualquier proceso patológico

presente; y formar las bases de oportunidad de tratamientos más apropiados y un juicio del pronóstico. Hasta el momento, este proceso se basaba principalmente en el análisis morfológico.

Nuevas técnicas al momento están siendo introducidas para permitir un análisis detallado del genoma y transcriptosoma del material clínico, imposible en el pasado; y la integración y expresión de los datos genéticos con la información histológica.

Respecto a los tumores cerebrales pediátricos se apoyan las siguientes generalidades: a) un alto grado de desbalance genómico está manifestado en estos tumores; b) un elevado número de aberraciones se correlacionan con la biología agresiva del tumor; y c) los cambios genéticos no aleatorizados están asociados con tipos particulares de tumor⁵.

Los ependimomas se caracterizan por un ambiente clínico variable. Los estudios citogenéticos revelan numerosas aberraciones cromosómicas en los ependimomas. En particular, la incidencia de un 30% a 50% de aberraciones involucra el cromosoma 22, incluyendo monosomía 22 así como deleciones de 22q (hallazgo más frecuente). Respecto a la localización del tumor detectado por Hibridación Genómica Comparativa (CGH, por sus siglas en inglés); en los tumores intracraneales ganancias en el cromosoma 1q y pérdidas en cromosomas 6q, 9 y 13 fueron frecuentes, mientras que ganancias en el cromosoma 7 fueron reconocidas casi exclusivamente en tumores espinales y fueron asociadas con otras aberraciones cromosómicas incluyendo frecuentes pérdidas del cromosoma 22q. En contraste a los adultos en los cuales los tumores espinales predominan, cerca del 90% de todos los ependimomas pediátricos son de origen intracraneal y tienen un pronóstico más pobre que los adultos. Esto podría explicarse por las diferencias dependientes de edad en la localización del tumor ó resección quirúrgica, hallazgos en el nivel genómico que sugieren también discrepancias biológicas. Estos hallazgos sugieren que el desarrollo de los ependimomas en edades tempranas es frecuentemente independiente de la inestabilidad cromosómica⁶.

Gracias a novedosas tecnologías de microanálisis, la expresión de miles de genes puede ser estudiada simultáneamente. En tumores cerebrales, los estudios de expresión genética recientemente incluyen tumores astrocíticos, oligodendrogiales así como neuroepiteliales embrionarios.

En un estudio retrospectivo realizado en Praga de 31 pacientes pediátricos con ependimomas intracraneales, Zamecnik y colaboradores estudiaron las implicaciones de pronóstico del sistema actual de clasificación, características de inmunohistoquímica e histológicas y estado de ploidia estimado por citometría de flujo. Concluyendo que la inmunopositividad del gen p53 y/o MIB-1 LI >5% (después de resección parcial) o MIB-1 LI >15% (después de resección completa) fueron los indicadores más fuertes

de agresividad del tumor y pobre pronóstico de la enfermedad con disminución de la supervivencia libre de enfermedad y supervivencia global a 7 años ⁷.

La identificación del cáncer como un trastorno de genes, ha abierto las posibilidades de clasificar a los tumores de acuerdo a las alteraciones genéticas que resaltan su patogénesis y que regulan su ambiente maligno, lo cual tiene utilidad clínica en el diagnóstico diferencial llevando a la identificación de aquellos genes que contribuyen a dicha tumorigénesis. Dos grandes clases de genes críticos para el desarrollo de todos los tipos de tumores, incluyendo tumores cerebrales, son actualmente reconocidos: *genes supresores de tumor*, los cuales codifican genes que inhiben la proliferación celular y desarrollo del tumor; y los *oncogenes*, los cuales codifican proteínas que estimulan la proliferación y median las actividades biológicas importantes para invasión, angiogénesis, escape inmune y otras características de malignidad. El reconocimiento de cambios genéticos específicos de los tipos de tumor en particular, puede proveer oportunidades para desarrollar tratamientos más efectivos y menos tóxicos.

Los ependimomas de las diferentes partes del SNC son histológicamente indistinguibles. Gilbertson recientemente ha demostrado que dichos tumores disponen diversos patrones de comportamiento clínico y anormalidades cromosómicas, dependientes de su localización, que sugieren que son una colección de diferentes enfermedades desde el punto de vista molecular. Lo anterior bajo el estudio de la *combinación de la expresión del gen oligonucléotido y prueba de hibridación genómica comparativa (CGH)* para describir las alteraciones moleculares en los ependimomas pediátricos y de adultos. Encontrando que los ependimomas contienen distintos patrones de expresión genética y ganancias y pérdidas cromosómicas dependientes de la localización anatómica del tumor e independientes de los parámetros clínicos o grado histológico⁸.

Lo anterior estudiado por el grupo holandés encabezado por Gilhuis y colaboradores quienes confirmaron que los ependimomas mixopapilares eran muy diferentes a nivel genético a los ependimomas cerebrales y espinales (grado II, O. M. S.) y los ependimomas anaplásicos cerebrales (grado III, O. M. S.). Y que las alteraciones genéticas extensas y aneuploidia en dichos tumores por sí mismos, no son un indicador de la malignidad del tumor ⁹.

Previamente en un estudio para detectar estas anormalidades genéticas en los ependimomas se concluyó que estos tumores muestran un perfil balanceado significativo más frecuente en niños que en los adultos. Los ependimomas clásicos y anaplásicos con ganancias en el cromosoma 1q tienden a ocurrir en la fosa posterior en niños y son más agresivos ¹⁰.

La prueba CGH es altamente utilizada para la identificación de desbalances cromosómicos en una amplia variedad de tumores cerebrales. Esta técnica evita algunas de las limitaciones asociadas con la citogenética convencional, tales como la dificultad para obtener metafases en las células tumorales de lento crecimiento. Además, la CGH no requiere material de tumor fresco y pequeñas piezas de tumor pueden ser analizadas de manera exitosa. Por lo tanto, es una poderosa técnica para la descripción citogenética de las células tumorales con fines diagnósticos y pronósticos ¹¹.

El número de alteraciones en las copias cromosómicas detectadas por citogenética clásica y CGH en los ependimomas incluyen cromosomas 1, 6, 7, 9, 10, 13, 17, 19 y 22. Las deleciones son las más comunes con pérdidas en el cromosoma 22. El grupo Germano demostró esta pérdida alélica del cromosoma 22q encontrada en 20 casos y fue significativamente más frecuente en ependimomas espinales de adultos (más del 50%) que en los ependimomas pediátricos ¹². Otros estudios demuestran que la pérdida del cromosoma 22 puede estar asociada con el subgrupo de ependimomas caracterizados por capacidad de proliferación baja ¹³. Por otro lado, ganancias han sido reportadas para el cromosoma 7. Estos hallazgos se han confirmado por datos de genética molecular que han identificado pérdidas en los cromosomas 6q, 9p, 10, 11q, 13q, 17p y 19q.

Los genes específicos para estas pérdidas y ganancias alélicas son desconocidos, en la mayoría de los casos ¹⁴.

Los ependimomas originados en la fosa posterior son factibles de contener deleciones del cromosoma 6q y 9p y se encuentran asociados con un porcentaje de supervivencia a 5 años de sólo el 50%. En contraste, la mayoría de los ependimomas espinales (que afectan a los adultos más comúnmente) tienen una mayor probabilidad de contener deleciones del cromosoma 22q y tienen un pronóstico más favorable. Otros como el NF2, genes no supresores de tumor u oncogenes han sido también identificados en los ependimomas.

En una serie realizada por Kramer y colaboradores de 23 casos de pacientes pediátricos con ependimomas intracraneales supratentoriales y de fosa posterior en búsqueda de cambios genéticos implicados en el desarrollo de estos y otros tumores del SNC; se demostró una región del cromosoma 6q la cual puede estar involucrada en el desarrollo y/o progresión de los ependimomas en niños ¹⁵.

La cirugía con una máxima resección es la piedra angular en el tratamiento de los ependimomas. Sin embargo, existe controversia en la literatura en cuanto a la influencia de una amplia resección quirúrgica sobre el pronóstico debido al número limitado de pacientes y las diferencias en el pronóstico que

dependen de los hallazgos histopatológicos y de la localización del tumor, creando conflicto en cuanto al manejo ulterior (quimioterapia y radioterapia).

La cirugía en aquellos ependimomas de localización en fosa posterior rara vez es curativa por sí sola y la morbilidad quirúrgica es alta en un 20% a 36% en las series más recientes publicadas por Undjian ¹⁶.

En cuanto a la dosis de radioterapia (RT) se ha visto que influye en la supervivencia global. Con mejoría de la misma de un 46% a 70% contra el 10% a 30% en aquellos pacientes que reciben más de 45Gy- 55Gy contra aquellos que reciben menos de 45Gy ¹⁷.

En relación a la quimioterapia (QT) no se ha podido demostrar que tenga impacto significativo en la supervivencia debido a que la mayoría de las series donde se utiliza esta modalidad de tratamiento, son pequeñas.

Se puede concluir que en los pacientes con ependimomas, la supervivencia reportada a 5 años es de 27% a 58% y que esta cifra cae dramáticamente, cuando se incluye solamente pacientes pediátricos ¹⁷.

JUSTIFICACION

Es importante e interesante encontrar como en diversas series publicadas, se comenta sobre el buen pronóstico que se le da a los pacientes portadores de un Ependimoma. Desafortunadamente, el escenario que en la realidad se ve no es el mismo. Mucha de la literatura es confusa porque se incluyen grupos de pacientes tanto adultos como niños y cuando se hace la estratificación se observa claramente cómo el peor pronóstico corresponde a los niños.

El estudio extenso de los factores de riesgo para estos pacientes (su localización, comportamiento histológico y alteraciones cromosómicas) son necesarios en el ajuste del mejor tratamiento, de preferencia individualizado a cada caso.

Y así mismo determinar si existen subtipos de ependimomas que influyan en la respuesta al tratamiento y que requieran diferentes abordajes terapéuticos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿EXISTEN DIFERENCIAS EN EL PATRÓN CROMOSÓMICO DE LOS EPENDIMOMAS DE ACUERDO A LA LOCALIZACIÓN DEL TUMOR?

¿EXISTEN DIFERENCIAS EN LA SUPERVIVENCIA DE LOS PACIENTES CON EPENDIMOMA DE ACUERDO A SU LOCALIZACIÓN, TIPO HISTOLÓGICO O ALTERACIÓN CROMOSÓMICA?

OBJETIVOS

1. Determinar las alteraciones cromosómicas de acuerdo a la localización del Ependimoma.
2. Determinar la supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad de los ependimomas de acuerdo a su localización, histología y alteraciones cromosómicas.

MATERIAL Y METODOS

UNIVERSO DE TRABAJO

El Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI del Instituto Mexicano del Seguro Social, centro hospitalario de tercer nivel que atiende a pacientes derechohabientes de la zona sur del Distrito Federal así como de los estados de Chiapas, Guerrero, Morelos y Querétaro.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

A. CRITERIOS DE INCLUSION:

- Pacientes menores de 17 años de edad con diagnóstico histopatológico de Ependimoma confirmado en el servicio de Patología de este Hospital.
- Pacientes con expediente clínico completo.
- Pacientes con bloques de parafina para estudio genético.

B. CRITERIOS DE ELIMINACION:

- Los pacientes que hayan abandonado tratamiento se excluirán para el análisis de supervivencia.

DEFINICION Y CLASIFICACION DE VARIABLES

A. VARIABLE DEPENDIENTE

1. SUPERVIVENCIA

Periodo de tiempo en años, que inicia a partir del diagnóstico hasta la fecha de la última valoración clínica

Escala de medición: de razón

Unidad de medición: número de años

a) Supervivencia global:

Periodo de tiempo en años desde la fecha en que se establece el diagnóstico hasta la muerte o la última evaluación del paciente.

Variable cuantitativa discreta; escala de medición en número de años.

b) Supervivencia libre de enfermedad:

Periodo de tiempo que se encuentra entre la desaparición clínica de la enfermedad por cualquier método terapéutico y su reaparición.

Variable cuantitativa discreta; escala de medición en número de años.

B. VARIABLES INDEPENDIENTES:

1. HISTOLOGIA DEL TUMOR

Estudio microscópico del crecimiento tisular producido por la proliferación continua de células anormales con capacidad de invasión y destrucción de otros tejidos.

Variable cualitativa, nominal.

Unidad de medición: ependimomas benignos o diferenciados o clásicos; ependimomas malignos o de alto grado o anaplásicos.

1. LOCALIZACION DEL TUMOR

Sitio con aumento de tamaño de carácter patológico de un tejido u órgano, secundario a la proliferación de las propias células de la zona afectada.

Variable cualitativa, nominal.

Unidad de medición: supratentorial, infratentorial.

2. EDAD

Tiempo transcurrido en años desde el nacimiento hasta la fecha del diagnóstico.

Variable cualitativa, discreta.

Unidad de medición: años

3. SEXO

Distinción entre masculino y femenino.

Variable cualitativa, nominal, dicotómica.

Unidad de medición: femenino, masculino.

4. ALTERACION CROMOSOMICA

Afectación de todo el cromosoma o de un segmento cromosómico.

Variable cualitativa, nominal, dicotómica.

Unidad de medición: presente, ausente.

C. VARIABLES DE CONFUSION:

1. QUIMIOTERAPIA

Tratamiento del cáncer mediante fármacos específicos que retrasan la tasa de crecimiento de las células tumorales.

Variable cualitativa, nominal.

Unidad de medición: si, no.

2. RADIOTERAPIA (MODALIDAD Y DOSIS)

Tratamiento del cáncer que incluye la localización precisa del tumor y la utilización de dosis fraccionadas múltiples, diarias o periódicas, de irradiación durante un periodo de tiempo determinado. La unidad de dosis absorbida es el gray (Gy) y es equivalente a 1 jule de energía absorbida por kilogramo de material.

Variable cuantitativa, continua.

Escala de medición: Gy.

Unidad de medición: si, no.

3. RESECCION QUIRURGICA DEL TUMOR.

Tratamiento de los tumores por medio de procedimientos operatorios, con o sin el uso de medicamentos.

Variable cuantitativa, discreta.

Escala de medición: en porcentaje.

Unidad de medición: más del 50%, menos del 50%.

DESARROLLO DEL ESTUDIO

1. Se revisaron los expedientes clínicos de los pacientes con diagnóstico de Ependimoma de acuerdo a los registros del servicio de Oncología que se tienen desde el año de 1996 y se incluyeron a todos aquellos que cumplían los criterios de inclusión. Llenando hoja de recolección de datos. (Anexo I).
2. Se analizaron los bloques de parafina con muestras del tumor al momento del diagnóstico mediante la técnica de Hibridación Genómica Comparativa para detectar alteraciones cromosómicas, realizada por un médico experto en genética como sigue: el DNA del tumor se marca con dUTP-biotina y el DNA normal con dUTP-digoxigenina., mediante "nick traslation". Posteriormente estos DNA's se hibridan sobre cromosomas en metafase de células normales. El sistema se revela con anticuerpos antibiotina-FITC (verde) y antidigoxigenina-RITC (rojo) y los cromosomas con el colorante 4',6-diamino-2-fenilindol (DAPI azul).

Los cromosomas se observan mediante filtros de excitación específicos y las imágenes de los 3 colores se capturan con el equipo Power Gene (para CGH), el cual contiene un programa para realizar la cario tipificación y análisis de imágenes. Así, las regiones que tiñen para verde implican amplificaciones o ganancias y en rojo pérdidas cromosómicas (ver Anexo II para mayor descripción de la técnica).

3. Al final los resultados obtenidos mediante la técnica genética ya descrita se integran a una base de datos. para ser posteriormente revisados y comparados de acuerdo a la localización e histología del tumor.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se incluyeron a todos los pacientes pediátricos con diagnóstico histopatológico de Ependimoma, que hayan sido tratados en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, durante el periodo comprendido desde enero 1996 a diciembre 2005.

ANALISIS ESTADISTICO

Se realizaron estudios de frecuencias simples y se calcularon curvas de supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad de acuerdo al método actuarial.

Se realizaron pruebas de Log Rank a fin de determinar diferencias significativas entre las supervivencias obtenidas de acuerdo a la localización, histología y alteraciones cromosómicas.

RECURSOS HUMANOS Y TECNICOS

Se requirió tesista, tutor, genetista y médico patólogo; así como de la ayuda del personal de archivo para la búsqueda de los expedientes clínicos. Dentro de los recursos técnicos se utilizó una computadora personal y programa Excel. Así mismo en la unidad de Genética se cuenta con el equipo Power Gene para la prueba de Hibridación Genómica Comparativa (CGH). Y en la unidad de Patología se cuenta con los bloques de parafina en los archivos de los pacientes a estudiar.

RESULTADOS

En el periodo comprendido de enero 1996 a diciembre 2005 fueron vistos en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional SXXI, un total de 62 pacientes con diagnóstico de Ependimoma establecido por el servicio de Patología; de los cuales se eliminaron 20 pacientes por no encontrarse expediente clínico y 19 más eliminados por no contar con bloques de parafina para realizar estudio de citogenética. Quedando un total de 23 pacientes evaluables para análisis clínico y citogenética.

La relación hombre: mujer fue igual a 0.93: 1, con ligero predominio del sexo femenino.

En cuanto a edad de presentación los pacientes con Ependimoma del Hospital de Pediatría del Centro Médico SXXI se presentaron con un rango de edades que va desde 3 meses hasta 14 años. Con media de edad de 6.7 años.

La supervivencia global (SG) de todos los pacientes estudiados con Ependimoma a 1, 5 y 10 años fue del 80%, 36% y 36% respectivamente. Y la supervivencia libre de enfermedad (SLE) para estos mismos a 1, 5 y 10 años fue del 60%, 31% y 18% respectivamente. (Gráfica 1, Anexo III).

Por localización se encontraron 7 (35%) a nivel supratentorial, 13 (60%) a nivel de cerebelo y 1 (5%) primario de neuroeje.

La SG a 1, 5 y 10 años para los ependimomas localizados a nivel supratentorial fue del 63%, 23% y 11% respectivamente. Y la SLE fue del 49%, 24% y 12% a 1, 5 y 10 años respectivamente. (Gráfica 2, Anexo IV).

La SG para los ependimomas de localización en cerebelo a 1, 5 y 10 años fue del 88%, 42% y 31% respectivamente. Y la SLE fue del 64%, 38% y 28% a 1, 5 y 10 años, respectivamente. (Gráfica 3, Anexo V).

Por histología, 6 (28%) fueron celulares y 15 (72%) anaplásicos.

Con una SG a 1, 5 y 10 años para los ependimomas de tipo celular del 91%, 38% y 19% respectivamente. Y una SLE del 74%, 39% y 19% a 1, 5 y 10 años, respectivamente. (Gráfica 4, Anexo VI).

Para los ependimomas del tipo anaplásico la SG a 1, 5 y 10 años fue del 76%, 31% y 23% respectivamente. Y la SLE fue del 56%, 30% y 18% a 1, 5 y 10 años respectivamente. (Gráfica 5, Anexo VII).

Se estudiaron 9 pacientes desde el punto de vista genético de los cuales 3 pacientes (33%) se presentaron con alteración cromosómica repetida (**1q12**). (Ver Anexos IX, X y XI).

La supervivencia global para los pacientes con Ependimoma y con alteración cromosómica a 1, 5 y 10 años fue de 50%, 50% y 0% respectivamente. Y la supervivencia global para el resto de pacientes sin alteración cromosómica a 1, 5 y 10 años, fue de 66%, 40% y 30% respectivamente. (Gráfica 6, Anexo VIII).

DISCUSION

Los resultados obtenidos sin lugar a duda son de interés dado que hablan de una diferencia significativa en la supervivencia de los pacientes con Ependimoma de acuerdo a su localización, histología y presencia de alteraciones cromosómicas.

Cabe señalar que aquellos pacientes con Ependimomas localizados a nivel supratentorial tienen una menor supervivencia que la obtenida en aquellos con Ependimomas localizados en cerebelo con una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.05$). Esto se ha reportado en varias series como lo indican Yuichi y colaboradores en un estudio realizado en 2001, señalando en los tumores intracraneales una supervivencia global y supervivencia libre de enfermedad a 5 años del 50% al 60% y del 30% al 50%, respectivamente.

Así mismo Korshunov y colaboradores en su estudio de correlación de la expresión genética con la edad del paciente, localización y grado del tumor, en el 2003 concluye que los pacientes con tumores localizados en médula espinal tienen usualmente un pronóstico favorable después de la resección macroscópica total, mientras que la progresión del tumor local es la causa principal de muerte en pacientes con ependimomas intracraneales, resultando una supervivencia global a 5 años del 60%.

En cuanto a la histología también se aprecia una ligera ventaja en aquellos pacientes con Ependimoma celular sobre la de los pacientes con Ependimoma anaplásico; sin embargo, no existe una diferencia estadísticamente significativa, que comparado con lo reportado en la literatura internacional y a pesar de numerosos estudios, la relación entre el grado histológico y la agresividad del tumor permanece incierta. Lo anterior señalado por Dyer y colaboradores en su estudio de desbalances genómicos en ependimomas intracraneales pediátricos del 2002.

Así mismo Hill y colaboradores en refiere que los Ependimomas celulares (grado II de malignidad) son diferentes de los anaplásicos (grado III) en base al bajo porcentaje mitótico y bajo nivel de polimorfismo nuclear, pero la línea límite entre ambos permanece aún sin definirse.

Los datos que se relacionan más con el pronóstico en los pacientes con ependimomas son el incremento en la celularidad así como el incremento en la actividad mitótica.

Lo más trascendente en este estudio es que a pesar de que solamente desde el punto de vista genético se estudiaron nueve pacientes, se encontró una alteración en el brazo largo del cromosoma 1, posición 12 en

tres de los pacientes estudiados. Lo cual se hace más importante al cotejar la supervivencia obtenida en estos pacientes que fue del 0% a 10 años, comparado con la obtenida del 30% en los seis pacientes restantes y sin alteración cromosómica. Lo cual tiene diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.05$) al realizar el Log Rank test.

Sin lugar a duda quien inició estos estudios genéticos en tumores cerebrales fue Gilbertson quien a finales de 1990 ya mencionaba la presencia de alguna alteración cromosómica y la diversidad entre los porcentajes de supervivencia. Y demostró que dichos tumores contienen distintos patrones de expresión genética y ganancias y pérdidas cromosómicas dependientes de la localización anatómica del tumor e independientes de los parámetros clínicos o grado histológico, que sugieren que son una colección de diferentes enfermedades desde el punto de vista molecular.

En particular, la incidencia de un 30 a 50% de aberraciones involucra el cromosoma 22, (incluyendo deleciones del brazo largo como hallazgo más frecuente).

Respecto a la localización del tumor detectado por CGH; en los tumores intracraneales ganancias en el cromosoma 1q y pérdidas en cromosomas 6q, 9 y 13 fueron frecuentes, mientras que ganancias en el cromosoma 7 fueron reconocidas casi exclusivamente en tumores espinales y fueron asociadas con otras aberraciones cromosómicas incluyendo frecuentes pérdidas del cromosoma 22q. Lo anterior referido en estudios realizados por Korshunov y colaboradores.

Así también en estudios realizados por el grupo holandés encabezado por Gilhuis y colaboradores, confirmaron que los ependimomas mixopilares (grado II, O. M. S.) cerebrales y espinales eran muy diferentes a nivel genético a los ependimomas anaplásicos cerebrales (grado III, O. M. S.).

Previamente Carter y colaboradores en un estudio para detectar estas anomalías genéticas en los ependimomas, concluyó que los ependimomas clásicos y anaplásicos con ganancias en el brazo largo del cromosoma 1 tienden a ocurrir más frecuentemente en la fosa posterior en niños y son más agresivos que en los adultos.

Así mismo en una serie realizada por Kramer y colaboradores de 23 casos de pacientes pediátricos con ependimomas intracraneales supratentoriales y de fosa posterior en búsqueda de cambios genéticos implicados en el desarrollo de estos y otros tumores del SNC; se demostró una región del cromosoma 6q la cual puede estar involucrada en el desarrollo y/o progresión de los ependimomas en niños.

Es obvio que se debe aumentar el tamaño de muestra de estos pacientes para poder sustentar los resultados obtenidos; sin embargo, los hallazgos preliminares apoyan y orientan hacia el inicio de una estrategia terapéutica más agresiva en los pacientes con alteraciones cromosómicas, que dicho sea de paso, los tres en este estudio con alteración cromosómica estaban localizados a nivel supratentorial y con estirpe histológica anaplásica.

CONCLUSIONES

1. La supervivencia global en los pacientes con Ependimoma de localización supratentorial, a 1, 5 y 10 años es menor que la encontrada en aquellos pacientes con Ependimoma de localización en cerebelo.
2. La supervivencia global a 1, 5 y 10 años de los pacientes con Ependimoma de variedad histológica anaplásico es menor que aquella encontrada en los pacientes con Ependimoma de histología celular.
3. La supervivencia global a 1, 5 y 10 años de aquellos pacientes con Ependimoma asociados a alguna alteración cromosómica es menor que la encontrada en aquellos pacientes con Ependimoma y sin asociación a alguna alteración cromosómica.

BIBLIOGRAFIA

1. Coulon RA, Hill K. INTRACRANEAL EPENDIMOMAS IN CHILDRENS. Childs Brain 1977; 3: 154-68.
2. Dyer S, Prebble E, Davison V et al. GENOMIC IMBALANCES IN PEDIATRIC INTRACRANEAL EPENDYMOMAS DEFINE CLINICALLY RELEVANT GROUPS. Am J Pathol 2002; 161(6): 2133-2141.
3. Yuichi H, Kenneth A, Andrew B et al. CHROMOSOMAL ABNORMALITIES SUBDIVIDE EPENDYMAL TUMORS INTO CLINICALLY RELEVANT GROUPS. Am J Pathol 2001; 158: 1137- 1143.
4. Hill JR, Kuriyama N, Kuriyama H et al. MOLECULAR GENETICS OF BRAIN TUMORS. Arch Neurol 1999; 56: 439-441.
5. Rienstein S, Aviram- Goldring A, Daniely M et al. GAINS AND LOSSES OF DNA SEQUENCES IN CHILDHOOD BRAIN TUMORS ANALYZED BY COMPARATIVE GENOMIC HYBRIDIZATION. Cancer Genet Cytogenet 2000; 121: 67-72.
6. 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 (5): 1721-27.
7. Zamecnik J, Snuderl M, Eckschlager T et al. PEDIATRIC INTRACRANEAL EPENDYMOMAS: PROGNOSTIC RELEVANCE OF HISTOLOGICAL, INMUNOHISTOCHEMICAL, AND FLOW CYTOMETRIC FACTORS. Mod Pthol 2003; 16(10): 980-91.
8. Gilbertson RJ, Taylor MD, Poppleton H, Fuller C, Su X et al. DISTINCT ORIGINS AND SUBTYPES OF EPENDYMOMA REVEALED BY GENOMIC PROFILING OF HUMAN AND MOUSE TISSUES. Twentieth Schweisguth prize, Vancouver 2005. Société Internationale D'Oncologie Pédiatrique & International Society of Paediatric Oncology.

9. Gilhuis HJ, van der Laak J, Wesseling P et al. INVERSE CORRELATION BETWEEN GENETIC ABERRATIONS AND MALIGNANCY GRADE IN EPENDYMAL TUMORS: A PARADOX? J Neurooncol 2004; 66(1-2): 111-6.
10. Carter M, Nicholson J, Ross F, Crolla J et al. GENETIC ABNORMALITIES DETECTED IN EPENDYMOMAS BY COMPARATIVE GENOMIC HYBRIDISATION. British J of Cancer 2002; 86: 929- 939.
11. Grill J, Avet- Loiseau H, Lellouch- Tubiana A et al. COMPARATIVE GENOMIC HYBRIDIZATION DETECTS SPECIFIC CYTOGENETIC ABNORMALITIES IN PEDIATRIC EPENDYMOMAS AND CHOROID PLEXUS PAPILOMAS. Cancer Genet Cytogenet 2002; 136: 121-125.
12. Lamszus K, Lachenmayer L, Heinemann U, Kluwe L et al. MOLECULAR GENETIC ALTERATIONS ON CHROMOSOMES 11 AND 22 IN EPENDYMOMAS. Int J Cancer 2001; 91 (6): 803-8.
13. Debiec- Rychter M, Biernat W, Zakrzewski K et al. LOSS OF CHOROMOSOME 22 AND PROLIFERATIVE POTENTIAL IN EPENDYMOMAS. Folia Neuropathol 2003; 41(4): 191-5.
14. Collins VP. BRAIN TUMOURS: CLASSIFICATION AND GENES. J Neurol Psychiatry 2004; 75 (Suppl II): ii2- ii11.
15. Biegel JA. GENETICS OF PEDIATRIC CENTRAL NERVOUS SYSTEM TUMORS. J Pediatr Hematol Oncol 1997; 19 (6): 492-501.
16. Kramer DL, Wentz EL, Parmiter AH and Biegel JA. MOLECULAR CYTOGENETIC STUDIES OF PEDIATRIC EPENDYMOMAS: #666. J Pediatr Hematol Oncol 1996; 18(4): 460.
17. Ullrich NJ, Pomeroy SL. PEDIATRIC BRAIN TUMORS. Neurol Clin N Am 21, 2003; 897- 913.
18. Cheng Y et al. GENETIC ALTERATIONS IN PEDIATRIC HIGH- GRADE ASTROCYTOMAS. Human Pathol 1999; 30 (11): 1284-90.

19. Schell S, Brüderlein S, Eicker M et al. LOW FREQUENCY OF CHROMOSOMAL IMBALANCES IN ANAPLASTIC EPENDYMOMAS AS DETECTED BY COMPARATIVE GENOMIC HYBRIDIZATION. *Brain Pathol* 11: 133- 143.

20. Ammerlaan ACJ, De Bustos C, Ararou A et al. LOCALIZATION OF A PUTATIVE LOW-PENETRANCE EPENDYMOMA SUSCEPTIBILITY LOCUS TO 22q11 USING A CHROMOSOME 22 TILING- PATH GENOMIC MICROARRAY. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 43: 329-338.

21. Santi M, Quezado M, Ronchetti R et al. ANALYSIS OF CHROMOSOME 7 IN ADULT AND PEDIATRIC EPENDYMOMAS USING CHROMOGENIC IN SITU HIBRIDIZATION. *J Neurooncol* 2005; 72(1): 25-8.

ANEXO I

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO DE LOS EPENDIMOMAS DE ACUERDO A SU LOCALIZACIÓN, HISTOLOGÍA Y ALTERACIONES CROMOSÓMICAS.

FOLIO _____

1. Nombre: _____

2. Número de afiliación _____

3. Fecha de Nacimiento _____

4. Edad _____ años

5. Sexo: Masculino () Femenino ()

6. Fecha de diagnóstico: _____

7. Fecha de Recaída: _____

8. Fecha de Defunción: _____

9. Fecha de última cita: _____

10. Estado actual del paciente:

11. Alteración cromosómica Presente () Ausente () Especificar tipo:

12. Localización del tumor:

Supratentorial () Cerebelar () Otra ()

13. Histología del tumor: Ependimomas benignos o diferenciados (celulares) () Ependimomas malignos o anaplásicos ()

PQ: _____

14. QT: Si _____ No _____

Especificar tipo y tiempo: _____

15. Radioterapia: Si _____ No _____ Gy: _____

16. Cirugía realizada: Más del 50% () Menos del 50% ()

ANEXO II

TECNICA DE HIBRIDACION GENOMICA COMPARATIVA (CGH)

3.1 Obtención de DNA a partir de tejido fresco.

3.1.1 Se agregan 2.1ml de amortiguador de digestión por cada 100mg de tejido (NaCl 100 mM, Tris-HCL 10mM pH 8.0, EDTA 25 mM pH 8.0, SDS 0.5%, proteinasa K 0.1 mg/ml).

3.1.2. La muestra se incuba a 50° C con agitación, durante 10 hrs.

3.1.3 Se realiza una extracción volumen-volumen con fenol-cloroformo-isoamílico (25-24-1).

3.1.4 Se agrega al sobrenadante medio volumen de acetato de amonio 7.5 M y 2 volúmenes de etanol absoluto o 1 volumen de isopropanol, para precipitar el DNA.

3.1.5 La pastilla de DNA se lava con etanol al 70% y se resuspende en 300 µl de agua des-ionizada estéril.

3.1.6 La concentración y pureza del DNA se determinan por espectrofotometría a 260 nm y 280 nm y la integridad en gel de agarosa al 1%.

3.2. Marcaje de la sonda. Método de corte y síntesis.

El procedimiento básicamente se realiza de acuerdo a los procedimientos recomendados por la casa comercial Vysis Inc.

Todo el procedimiento se realiza a 4-6 °C.

3.2.1. En un tubo Eppendorf de 0.5 ml se colocan los siguientes reactivos, en el siguiente orden:

17.5 – X	ul	agua libre de nucleasa
X	ul	para obtener 1 ug de DNA
2.5	ul	0.2 mM Spectrum Green o Spectrum Red dUTP
5	ul	0.1 mM dTTP
10	ul	dNTP mix
5	ul	10X nick translation buffer
10	ul	nick translation enzyme

50	ul	volumen total

3.2.2. La mezcla se incuba de 1-4 horas a 15 °C.

3.2.3. Se determina el tamaño de los fragmentos en gel de agarosa al 1%. Se considera adecuado el rango de 300-3000 pb.

3.3. Mezcla de las sondas.

3.3.1. En un tubo Eppendorf de 1.5 ml se colocan:

- 200 ng (10 µl) de la muestra de DNA marcada por corte y síntesis (de color verde).

b) 100 ng (1 μ l) del DNA normal (marcado en rojo).

c) 10 μ g de DNA-cot.

3.3.2. La mezcla se precipita con acetato de sodio 3M y 2.5 volúmenes de etanol al 100%, a -20°C .

3.3.3. La mezcla de las sondas se desnaturaliza a 73°C , por 10 min.

3.4. Co-hibridación de la sonda con las metafases.

3.4.1. Se prepara una solución de desnaturalización (formamida al 70% en 20XSSC, pH7) a $72-74^{\circ}\text{C}$, en la cual se coloca la laminilla que contiene las células en metafase.

3.4.2. Se deshidrata la laminilla pasándola por 1 min en una solución de etanol al 70%, posteriormente al 85% y finalmente al 100%.

3.4.3. Se coloca la laminilla en una platina a $45-50^{\circ}\text{C}$ y se le agregan las sondas desnaturalizadas.

3.4.4. Inmediatamente se pone un cubreobjetos y se sella con cemento iris.

3.4.5. La laminilla se incuba en una cámara húmeda a 37°C .

3.5. Lavado de la laminilla.

3.5.1. La laminilla se lava con la solución de lavado (0.4X SSC/0.3 % NP-40) en baño María a $73-75^{\circ}\text{C}$.

3.5.2. La laminilla se seca a temperatura ambiente y en oscuridad.

3.6. Visualización de la hibridación.

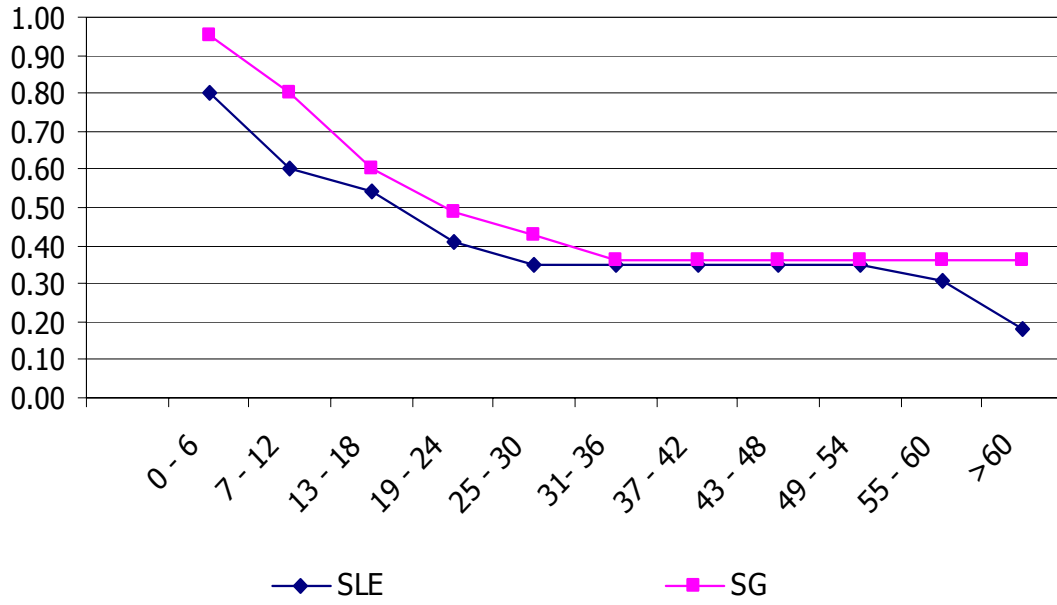
3.6.1. Se aplican 10 μ g de DAPI II (azul) para contra-teñir.

3.6.2. Las metafases híbridadas se observan en el microscopio equipado con filtros de excitación específicos y las imágenes de los 3 colores se capturan utilizando el equipo Power Gene el cual contiene el programa Quips (Vysis) que realiza la cario tipificación y el análisis de imágenes. Así las regiones que tiñen para verde representan **ganancias** o amplificaciones y en rojo, **pérdidas**.

ANEXO III

GRAFICA 1

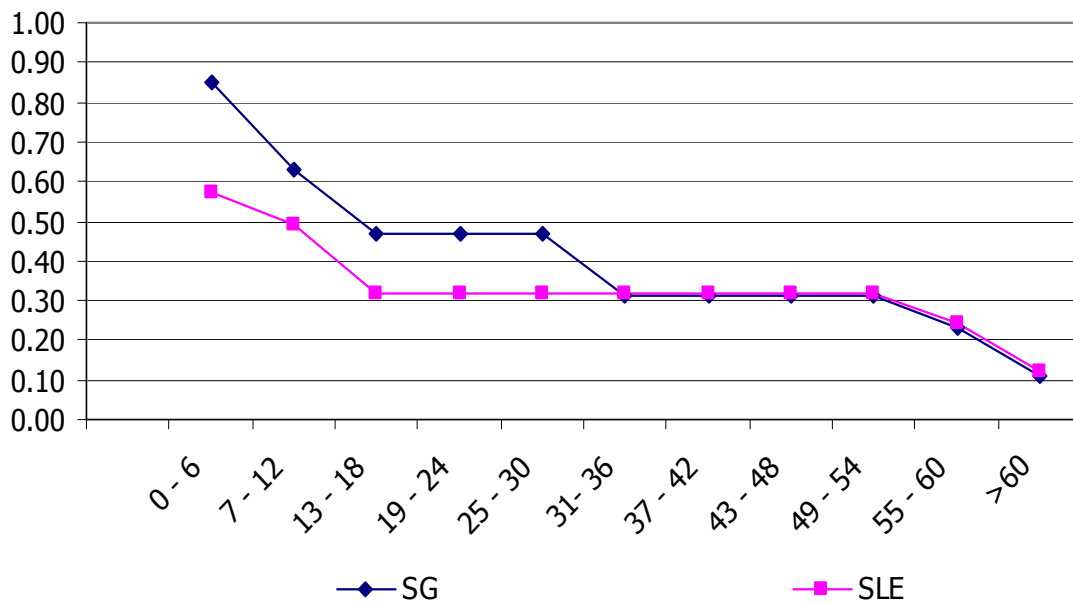
Supervivencia Global y Libre de Enfermedad de Pacientes con Ependimoma



ANEXO IV

GRAFICA 2

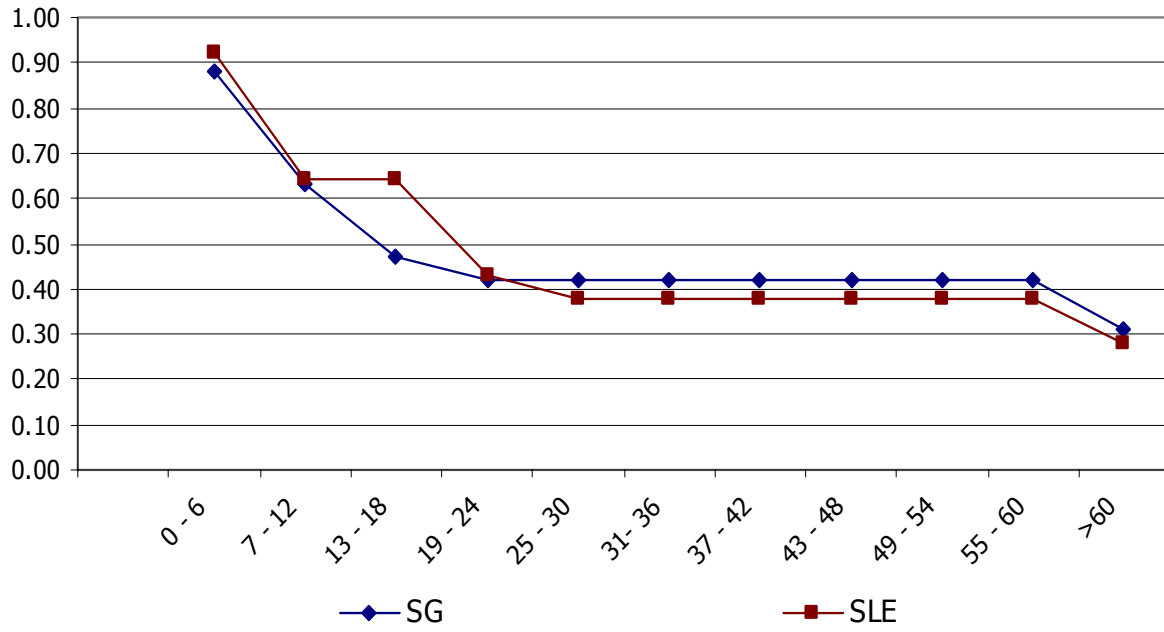
Supervivencia Global y Libre de Enfermedad en Ependimomas Supratentoriales



ANEXO V

GRAFICA 3

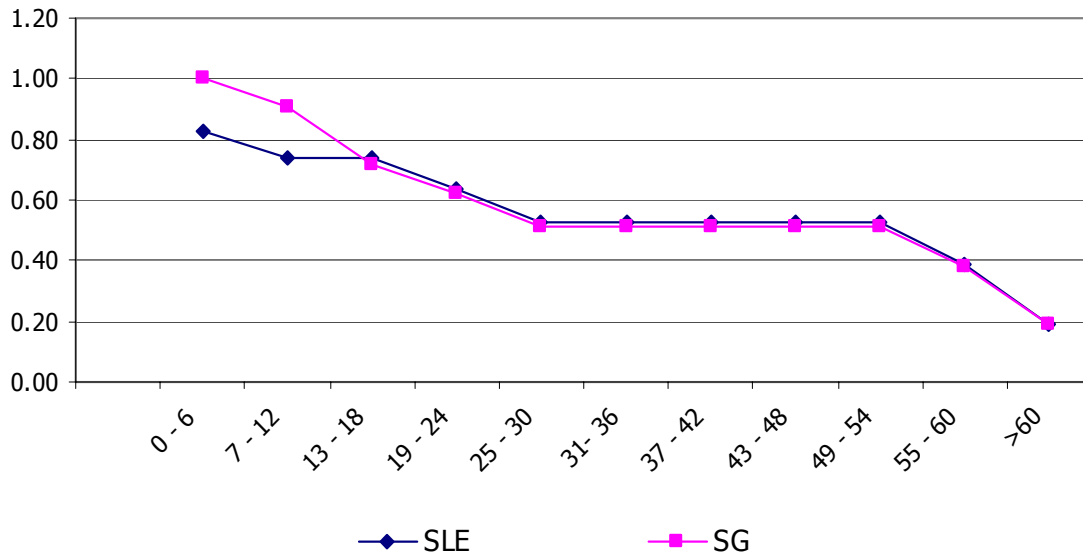
Supervivencia Global y Libre de Enfermedad en Ependimomas Cerebelares



ANEXO VI

GRAFICA 4

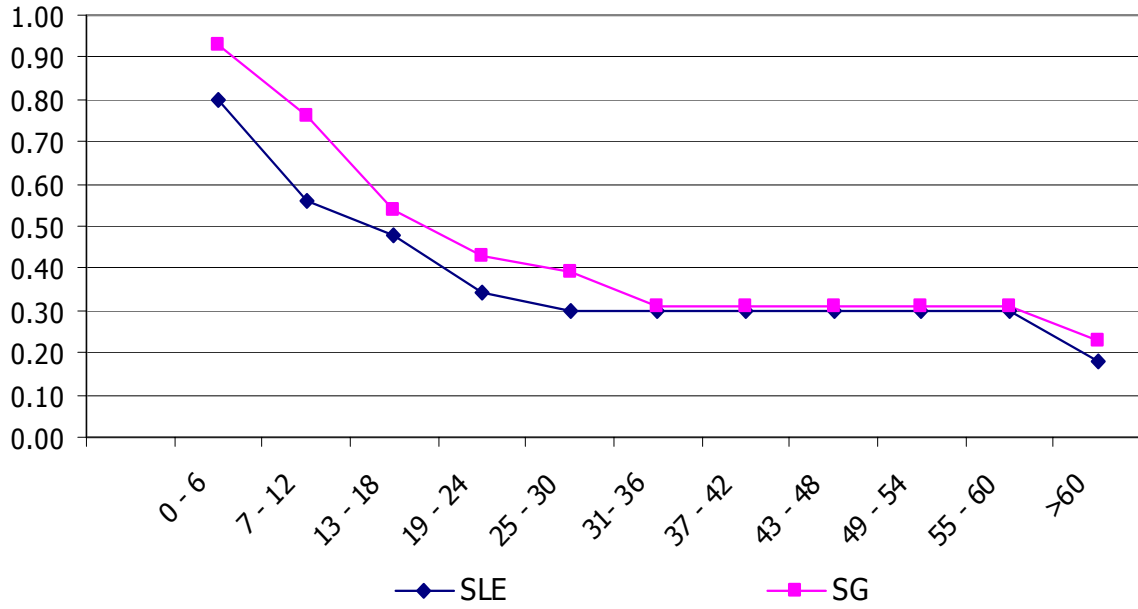
Supervivencia Global y Libre de Enfermedad en Ependimomas Celulares



ANEXO VII

GRAFICA 5

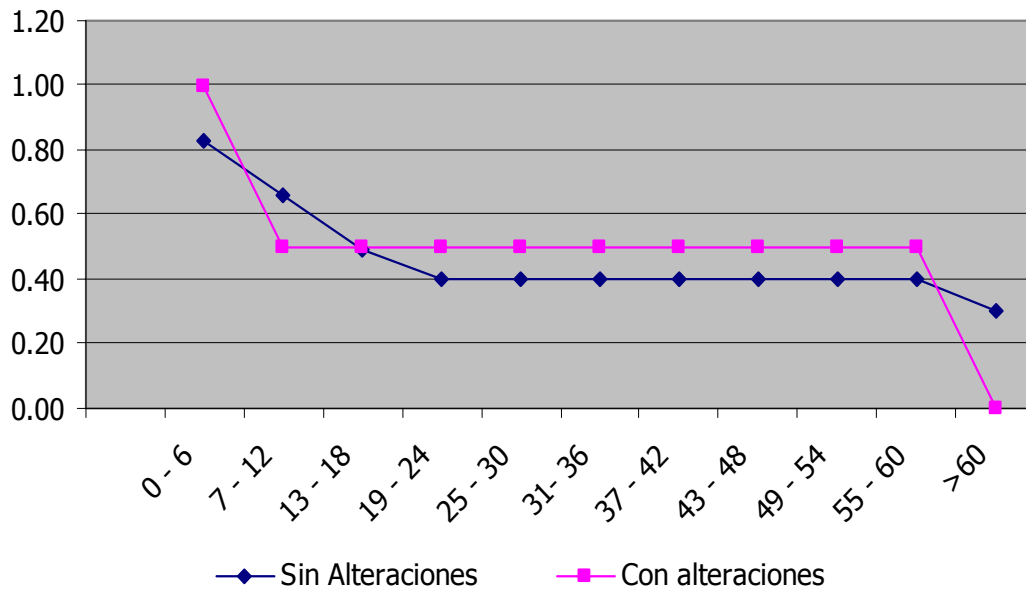
Supervivencia Global y Libre de Enfermedad en Ependimomas Anaplásicos



ANEXO VIII

GRAFICA 6

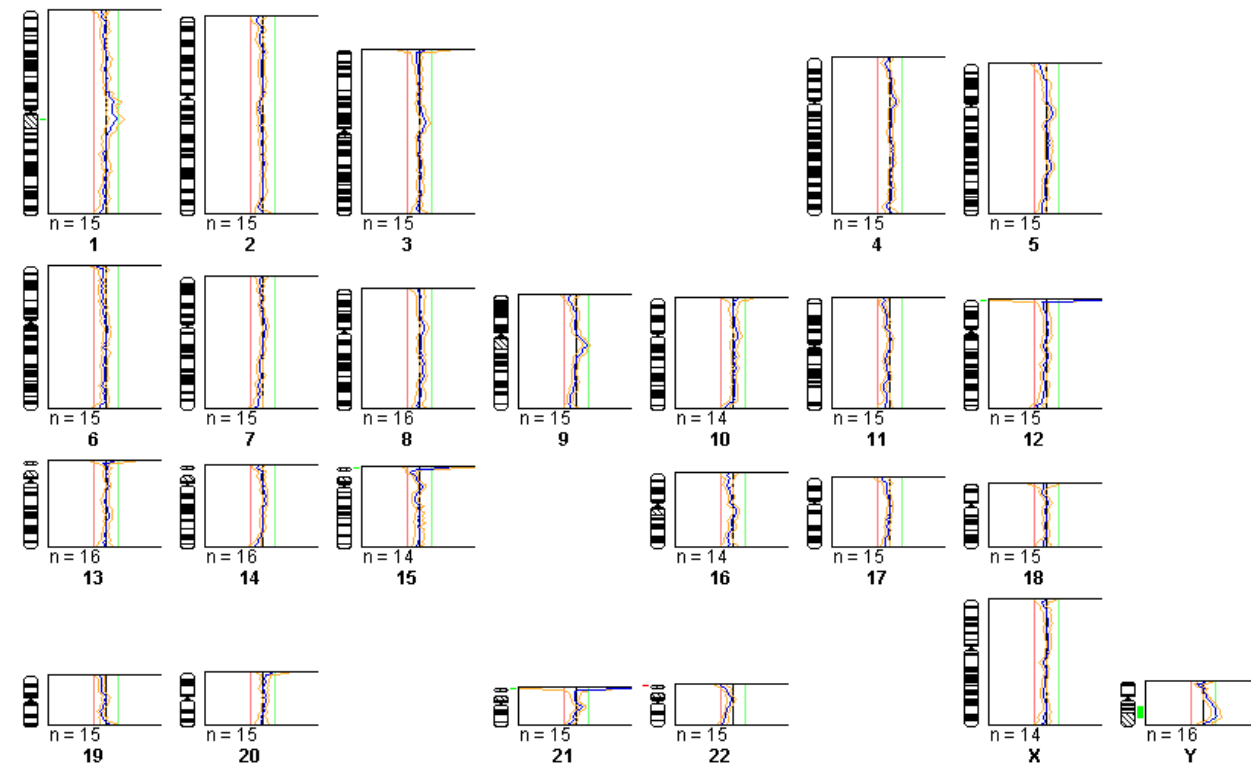
Supervivencia Global en pacientes con Ependimoma y alteraciones cromosómicas



ANEXO IX

PACIENTES CON EPENDIMOMA Y REGION CROMOSOMICA CON ALTERACION

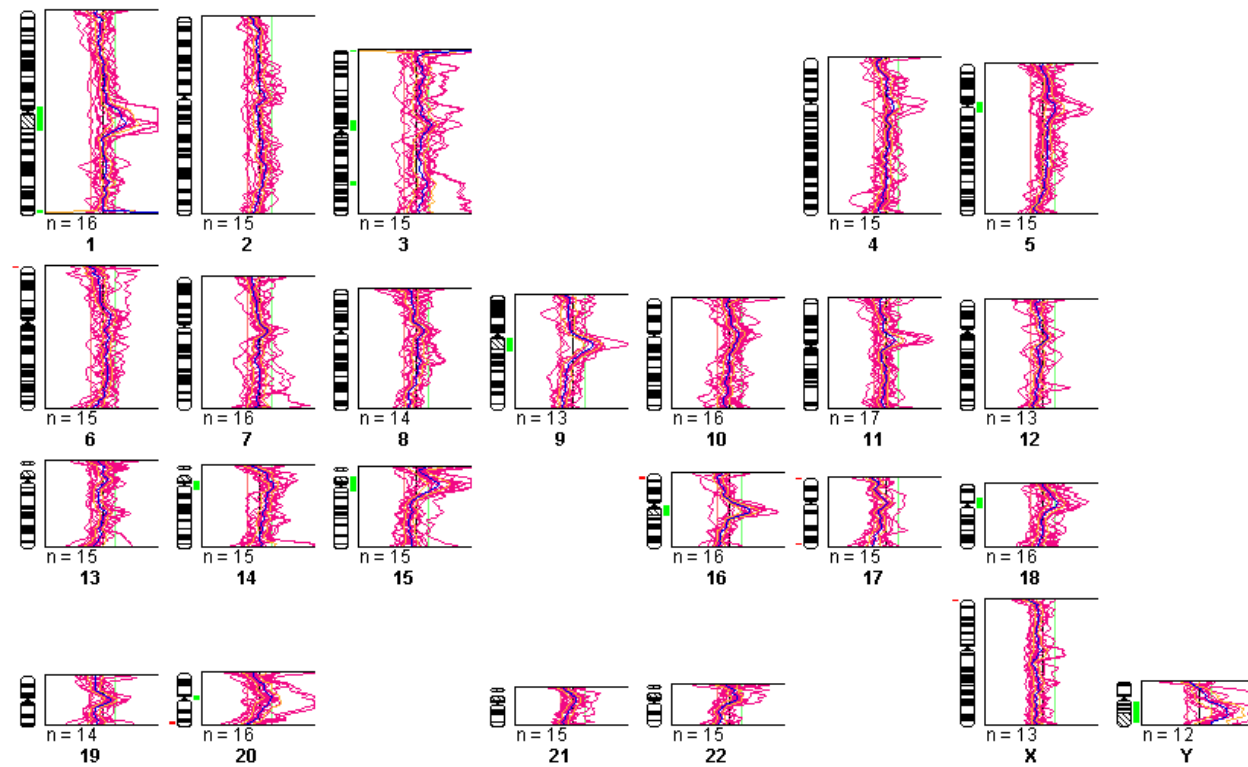
PACIENTE No. 1



ANEXO X

PACIENTES CON EPENDIMOMA Y REGION CROMOSOMICA CON ALTERACION

PACIENTE No. 2



ANEXO XI

PACIENTES CON EPENDIMOMA Y REGION CROMOSOMICA CON ALTERACION

PACIENTE No. 3

