



INMUNOMARCACIÓN CON CD133, SURVIVINA, SURVIVINA-2B Y SURVIVINA-DEX3, EN SEIS CASOS DE MIXOMAS CARDIACOS

TESIS

Para obtener el Título en el curso de especialidad de Anatomía
Patológica.

Presenta:

Dr. Omar Luis Hernández Bringas

Tutor:

Dr. Carlos Ortiz Hidalgo

MÉXICO D.F., AGOSTO DE 2013



FACULTAD DE MEDICINA



Methodist[®] Methodist
International



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Dr. José Halabe Cherem

Jefe de la División de Enseñanza e Investigación, Centro Médico ABC

Dr. Carlos Ortiz Hidalgo

Tutor de Tesis

AGRADECIMIENTOS

A mis maestros Carlos Ortiz, Javier Baquera, Tere Cuesta, César Lara, Danny Soria y Álvaro Padilla, por la oportunidad, por la enseñanza, por la paciencia y por la amistad.

Al Doctor Luis del Valle por la contribución técnica y académica para hacer posible este trabajo.

RESUMEN

Los mixomas cardiacos son los tumores primarios más comunes del corazón humano. Son tumores con comportamiento biológico benigno, sin embargo, tienen relevancia debido a la dificultad de su sospecha clínica y a sus posibles complicaciones dada su localización dentro de las cavidades del corazón. La naturaleza de estos tumores siempre ha estado sujeta a controversia, desde las dudas de que representen una verdadera neoplasia o sean tan sólo un trombo organizado, hasta dudas sobre su célula de origen. Su naturaleza neoplásica ha sido confirmada por diversos estudios, pero el origen y la patogénesis siguen siendo cuestiones sin aclarar. Se ha postulado que surgen de células maduras del endocardio, de restos embrionarios o de células pluripotenciales del endocardio. Para contribuir a aclarar estas interrogantes, en el presente trabajo informamos de 6 casos de mixomas cardiacos que fueron positivos para la inmunomarcación con CD133, survivina, survivina-2B y survivina- Δ Ex3. El CD133 es una proteína transmembranal que se ha usado para identificar células hematopoyéticas y progenitoras, así como a las llamadas células madre del cáncer. La survivina es un inhibidor de la apoptosis cuya expresión se encuentra en la gran mayoría de las neoplasias humanas; existen varios subtipos de survivina, los cuales se ha observado tienen papeles diferentes en la patogénesis de algunas neoplasias.

INTRODUCCIÓN

Aproximadamente 75% de los tumores cardiacos son benignos y de estos entre el 50 y el 85% corresponden a mixomas, que tienen una incidencia de 0.5 -1 por 10⁶ individuos por año ^{1,2,3}. Los mixomas cardiacos (MC) pueden desarrollarse en cualquiera de las cavidades cardiacas, pero hasta el 90% de ellos están localizados en la aurícula izquierda, adheridos principalmente al tabique interauricular cerca de la *fossa ovalis*³. Los MC se presentan en todos los grupos de edad, pero son particularmente frecuentes entre la tercera y sexta décadas de la vida ¹. Clínicamente hay dos formas: los tumores esporádicos (90%), y aquellos tumores familiares (10%) que pueden formar parte del síndrome de Carney, en el que además de MC puede haber mixomas en otras localizaciones, lesiones pigmentadas, hiperactividad endócrina y algunas otras neoplasias ⁴. Los pacientes con MC pueden no presentar síntoma alguno, mostrar datos clínicos inespecíficos, o presentar datos de desequilibrio hemodinámico por obstrucción intracardiaca y signos de embolización sistémica o pulmonar ^{3,5}. La escisión quirúrgica es el único tratamiento para estos tumores, y es usualmente curativa ¹. Se ha observado recurrencia de 1 a 4% en los mixomas esporádicos y de 12 a 22% en los casos familiares ^{1,6}. El MC es de histogénesis incierta y se han propuesto diversos orígenes celulares como el endotelial, neurogénico, fibroblástico, cardiomiocítico o de células madre pluripotenciales y se han utilizado diversos inmunomarcadores para este fin.

El CD133, o prominina-1, fue originalmente identificado en células madre neuroepiteliales de ratón en 1997. Su función exacta es desconocida y fue descrito posteriormente en humanos como un marcador expresado en células madre hematopoyéticas y progenitoras⁷. En diversos estudios

el CD133 se ha utilizado para marcar células mesenquimales primitivas⁸ y células madre tumorales⁹. A nuestro saber no hay estudios de la expresión de este marcador en relación a los MC.

Por otro lado, la survivina es una proteína miembro de la familia de las proteínas inhibidoras de la apoptosis, que está expresada en un buen número de tumores, pero ausente en tejidos maduros diferenciados. Este marcador se ha estudiado en mixomas cardiacos únicamente en una sola publicación¹⁰; las variantes survivina-2B y survivina-ΔEx3 no han sido estudiadas previamente en estos tumores.

En este trabajo inmunomarcamos 6 casos de MC con CD133 con el objetivo de evaluar si la expresión puede sugerir origen de células madre progenitoras. Además utilizamos survivina y dos de sus variantes, la survivina-2B y la survivina-ΔEx3, para valorar su expresión y evaluar si su expresión pudiera contribuir a aclarar la histogénesis de estos tumores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Una revisión retrospectiva del material de archivo de nuestra institución mostró 6 casos de MC desde enero del año 2000 hasta mayo de 2012. Los informes de patología, las laminillas y los bloques de parafina estuvieron disponibles para los seis casos. Los informes de patología mostraron los datos relacionados a edad, sexo, localización, tamaño y características macroscópicas de los tumores. Las muestras de tejido se fijaron en formaldehído al 10% y se colocaron en parafina para su análisis histológico. Todos los cortes fueron teñidos con hematoxilina y eosina y las características histológicas de cada tumor fueron evaluadas.

En los 6 casos se realizó inmunomarcación con CD31, CD34, PGP9.5, S100A6, calretinina, desmina, citoqueratinas de amplio espectro y Ki-67. Además realizamos CD133 (AbFrontier/LF-PA50121/1:500) y anti-survivina (Santacruz Biotech (D-8) / 1:100), así como de sus variantes survivina-2B (Santacruz Biotech/ Rabbit polyclonal/ 1:250) y survivina- Δ Ex3(Santacruz Biotech / Rabbit polyclonal /1:250). Los cortes fueron montados en laminillas con carga positiva y fueron secadas por 30 min a 37°C. Los cortes fueron desparafinados con xilol y rehidratados por una serie de alcoholes gradados. Los cortes se incubaron con anticuerpos policlonales contra CD133, survivina, survivina-2B y survivina- Δ Ex3 con una dilución de 1:100 por 30 min.

RESULTADOS

Un total de 6 pacientes (hombres y mujeres) fueron evaluados en nuestra institución durante un periodo de 11 años (Tabla 1). La edad promedio de los pacientes fue 61 años, con un rango de 55 a 73 años y con un predominio de presentación en mujeres 83.3% (F:M-5:1). Cuatro de los seis tumores se localizaron en la aurícula izquierda (66%) y el resto en aurícula derecha. Todos los casos fueron esporádicos, solitarios e involucraron sólo a las aurículas. Al momento del estudio no se han reportado recurrencias.

Macroscópicamente los MC presentaron superficie multilobulada café grisácea o café rojiza, consistencia blanda de aspecto mixoide y frecuentemente mezclada con áreas hemorrágicas. La longitud promedio de su eje mayor fue de 4.7cm. Microscópicamente los tumores presentaron células tumorales inmersas en abundante matriz mixoide. En algunas áreas las células se

encontraron de forma aislada, en otras formaban cordones celulares y en ocasiones formaron agregados concéntricos alrededor de espacios pequeños simulando estructuras vasculares (Fig.1-A). Histológicamente se observaron dos tipos de células: 1) las células estelares, alargadas con núcleos redondos u ovals y citoplasma eosinófilo y 2) las células poliédricas (también llamadas células lepidicas), que igualmente presentaron núcleo redondo u oval y variable cantidad de citoplasma eosinófilo.

No.	Edad	Sexo	Localización
1	58 años	F	Aurícula Izquierda
2	73 años	F	Aurícula Izquierda
3	57 años	M	Aurícula Derecha
4	64 años	F	Aurícula Izquierda
5	60 años	F	Aurícula Derecha
6	55 años	F	Aurícula Izquierda

Tabla 1. Datos generales de seis casos de mixomas cardíacos.

Todos los tumores presentaron positividad multifocal para los marcadores endoteliales CD31 y CD34, así como para los marcadores de diferenciación neural Pgp9.4, S100a6 y particularmente intensidad difusa e intensa para la calretinina. La desmina fue negativa, así como las citoqueratinas, a excepción de los componentes glandulares presentes en el caso # 4. El índice de proliferación celular, medido con Ki-67, fue muy bajo en todos los casos. Estos resultados se muestran en la Tabla 2.

Marcador/Caso	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Caso 4 (Estroma/ Glándulas)	Caso 5	Caso 6
Pgp9.5	+	+	+	+/+	+	+
CD34	+	+	+	+/+	+	+
Desmina	-	-	-	-/-	-	-
Ki-67	1%	2%	1%	2%	1%	2%
Calretinina	+	+	+	+/+	+	+
CKAE1-3	-	-	-	-/+	-	-
S100a6	+	+	+	+/+	+	+
CD31	-	+	+	+/+	+	+

Tabla 2. Resultados de inmunohistoquímica general.

Hubo positividad en las membranas citoplásmicas de las células tumorales para CD133 en todos los casos, con intensidad variable (Fig. 1-B). Todos los casos fueron positivos en las células neoplásicas para alguna de las variantes de survivina, ya sea en núcleo o citoplasma (Fig. 2). Para el marcador de survivina, 5 de los 6 casos fueron positivos en el citoplasma; para la variante survivina- Δ Ex3, cuatro casos fueron positivos de manera nuclear y para survivina-2B los seis casos estudiados fueron positivos en el citoplasma. Estos resultados se muestran en la Tabla 3.

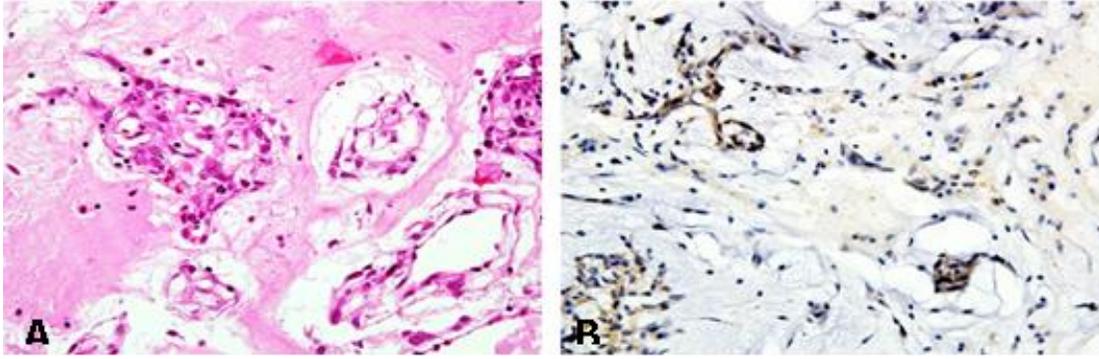


Figura 1. A) Mixoma cardiaco, tinción de HyE. B) Positividad para CD133 en un mixoma cardiaco.

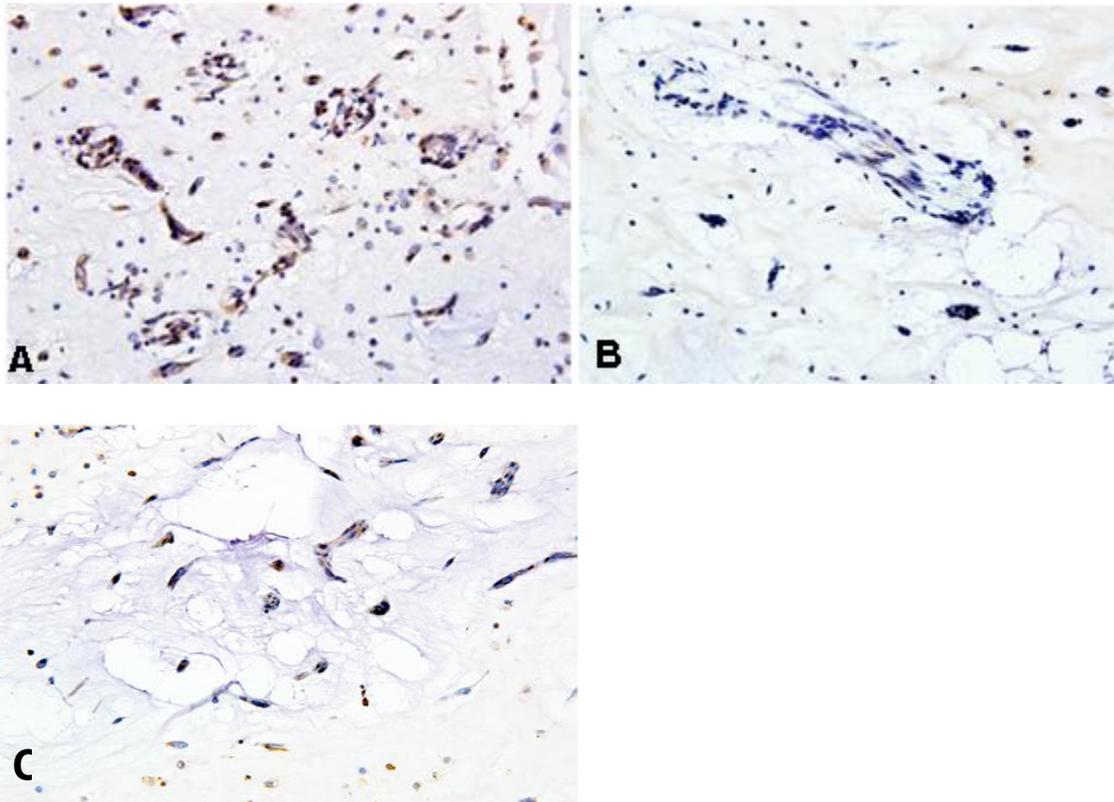


Figura 2. A) Marcación citoplásmica para survivina. B) Marcación citoplásmica para survivina-2B. C) Marcación nuclear para survivina- Δ Ex3.

No.	CD133	Survivina	Survivina Δ Ex3	Survivina 2B
1	++	++	-	+++
2	++	+	+n	+
3	+	+++	-	+
4	+++	+++	+n	+++
5	++	++	++n	+++
6	+	-	++n	++

Tabla 3. Resultados de inmunomarcación para CD133, Survivina, Survivina- Δ Ex3 y Survivina-2B. Abreviaturas: (n) nuclear, (-) negativo, (+) inmunoreactividad débil, (++) inmunoreactividad moderada, (+++) inmunoreactividad intensa.

DISCUSIÓN

Desde las primeras descripciones de los MC, se consideró que estos no eran neoplasias verdaderas sino trombos intracardiacos organizados^{6,11}. Sin embargo, el análisis de expresión genética, la observación repetida de una organización histológica muy particular, las anormalidades cromosómicas observadas y el patrón de ploidía de ADN^{3,11}, confirmaron que el MC es una neoplasia y no una modificación patológica de tejido normal¹². Si bien lo anterior ya está establecido, la histogénesis de estos tumores sigue siendo incierta, y esta dificultad deriva de su naturaleza conflictiva en cuanto a sus manifestaciones inmunohistoquímicas y morfológicas.

Por inmunohistoquímica, se ha encontrado expresión de diferentes tipos de linajes inmunofenotípicos, lo que ha sugerido un posible origen epitelial, endotelial, miogénico, miofibroblástico o neural¹³. Debido a la expresión de marcadores como PGP 9.5, S100 y

calretinina, varios autores han sugerido que las células de mixoma se originan de tejido nervioso sensorial endocárdico^{14,15}. Esta heterogeneidad de resultados en el inmunofenotipo de las células de mixoma es una de las razones de las hipótesis conflictivas respecto a su histogénesis³ y ha llevado a suponer que los MC se originan de una célula madre pluripotencial o multipotencial¹³, capaz de crear células con características de varios linajes. Estas células neoplásicas podrían ser células vasoformativas de reserva subendoteliales, o células primitivas que posiblemente representen restos embrionarios retenidos anormalmente durante eventos de migración del desarrollo temprano humano, y que residan en la *fosa ovalis* y/o en el endocardio cercano¹⁶. En este sentido, se han informado similitudes morfológicas entre las células de los mixomas y las células de las almohadillas endocárdicas del desarrollo embrionario¹⁷. Se ha sugerido que los pequeños cuerpos de Prichard pudieran ser evidencia de esto¹⁸, sin embargo, ha sido demostrado que estas diminutas proliferaciones de células endoteliales del endocardio muestran diferencias substanciales inmunofenotípicas con los mixomas¹⁶.

Con el avance de las técnicas moleculares se ha encontrado evidencia que apunta hacia un origen de células madre en los MC y se ha propuesto su origen a partir de una célula progenitora de cardiomiocitos¹⁹. Los resultados de algunos autores sugieren que las células de los MC se encuentran comprometidas en el espectro de diferenciación en el punto de multipotencialidad, correspondiente a la etapa que precede a la diferenciación de las almohadillas endocárdicas en el desarrollo embrionario, es decir, la transformación endotelial-mesenquimal. Esto es avalado por el hallazgo de la expresión en las células neoplásicas de factores de transcripción propios de cardiomiocitos primitivos, como lo son Nkx2.5/Csx y eHAND y por la expresión de la actina alfa de músculo liso (α -SMA), propia de cardiomiocitos durante el desarrollo temprano

embrionario en algunas células, apoyado además por el hallazgo de la coexpresión de CD34 y α -SMA en algunas células. Estos hallazgos son compatibles con varias posibilidades: que las células del mixoma deriven de restos embrionarios de las almohadillas endocárdicas, de re-expresión (“regresión”) del fenotipo cardiomiogénico temprano de células cardíacas adultas bien diferenciadas, y de manera importante, que deriven de células multipotenciales mesenquimales presentes en el corazón adulto^{3,13,19}. Otros autores encontraron un grupo de genes específicos del cartílago (SoX9, MIA y SPP1), lo que para ellos apoya indirectamente que los MC surgen de células pluripotenciales mesenquimales, es decir, que pueden diferenciarse hacia varios linajes¹².

En los últimos años, subpoblaciones específicas de células con propiedades tipo célula madre, llamadas células madre del cáncer (CMC), han sido identificadas en tumores sólidos de varios orígenes^{20,21}. Debido a las propiedades intrínsecas de las CMC, como capacidad de autorenovación y quimioresistencia aumentada, se cree que puedan representar la principal fuerza detrás del crecimiento tumoral^{20,22}. Se han identificado poblaciones tumorogénicas de células de cáncer en varios tipos de neoplasia con una variedad de marcadores moleculares^{7,22}. El CD133 o prominina-1, es una glicoproteína transmembranal que fue identificada originalmente como un antígeno de superficie en células hematopoyéticas CD34+. Su función biológica no está bien comprendida aún, pero se ha utilizado para purificar células madre hematopoyéticas y progenitoras^{23,24,25}. Sólo o en combinación, el marcador CD133 se ha usado para identificar estas CMC como una subpoblación tumorogénica en tumores de cerebro, páncreas, colon, próstata, ovario, pulmón y piel, entre otros^{22,26}. Por ejemplo, la inyección de células CD133+ de carcinomas de ovario en ratones inmunodeprimidos, ha mostrado la capacidad tumorogénica

incrementada en estas células y la recapitulación del tumor de ovario original²⁰. Se espera que al identificar y caracterizar estas poblaciones celulares, se conviertan eventualmente en futuros blancos terapéuticos.

En este estudio hemos observado la presencia de células CD133+ en todos nuestros casos de MC. Todos los tumores estudiados de nuestra serie mostraron la positividad al CD133, lo que sugiere que estas células pudieran jugar un papel importante en el inicio y mantenimiento de la neoplasia, así como en su patogenia. Nuestros resultados y los informados por otros autores, no permiten establecer de manera definitiva el origen de los MC, sin embargo, apoyan la teoría establecida de que surgen de células primitivas endocárdicas o células mesenquimales subendocárdicas, con el potencial de expresar fenotipos diversos y sugieren que sean estas células las que sufran alteraciones genéticas para transformarse en células neoplásicas. En el futuro, la subpoblación de células CD133+ pudiera proveer de un blanco para el diseño de estrategias terapéuticas que se dirijan a la curación, prevención y al control de la recurrencia de estos tumores²⁰.

Por otro lado, la survivina es un miembro de la familia de los inhibidores de la apoptosis, proteínas que preservan la viabilidad celular actuando como inhibidores endógenos de las caspasas 3 y 7¹⁰. Se ha estudiado que la supresión de la apoptosis contribuye al desarrollo de las neoplasias al prolongar anormalmente la vida de las células y facilitar la acumulación de anormalidades genéticas. Defectos en los mecanismos apoptóticos también juegan un papel importante en la resistencia a la quimio y radioterapia. Normalmente la survivina se expresa en el ciclo celular en la transición de la fase G2 a la mitosis²⁷. Es expresada por células no neoplásicas con tasas altas de proliferación, como en las células que participan en la embriogénesis.

Notablemente, la survivina se expresa en virtualmente todas las neoplasias humanas y es esta casi total expresión en el cáncer, al tiempo de su relativa ausencia en tejidos normales, lo que la hace una molécula con gran potencial como blanco terapéutico contra el cáncer²⁸. Además de la inhibición de la muerte celular normal, se ha observado que la survivina promueve la proliferación celular, estimula la angiogénesis, la invasión tumoral y está asociada a resistencia a diversos agentes quimioterapéuticos y a mal pronóstico¹⁰.

La molécula de la survivina se localiza en el aparato mitótico y en el centrómero de los cromosomas, y en las mitocondrias²⁷. Esta localización en diversos lugares dentro de la célula se corresponde con múltiples funciones. El gen de la survivina puede transcribir diferentes variantes de ARNm, mismas que codifican a las distintas variantes de survivina, como lo son la 2B y la Δ Ex3, y que al parecer presentan funciones específicas^{28,29}. El significado preciso de la expresión de survivina, survivina-2B, survivina- Δ Ex3 está aún por esclarecerse; se ha informado un efecto inverso en la expresión entre estas dos variantes. La expresión exógena de survivina-2B, localizada en las mitocondrias, induce muerte por apoptosis de las células cancerígenas²⁸, lo que se ha correlacionado con un comportamiento benigno en diversos tumores³⁰. Por otro lado, la expresión elevada de survivina- Δ Ex3, localizada en el núcleo³¹, mostró comportamiento más agresivo en otro grupo de tumores³².

El estudio que aquí presentamos es el segundo que confirma la expresión de survivina en los MC, y el primero en informar la marcación de las variantes survivina-2B y survivina- Δ Ex3. La positividad para esta proteína implica que esta molécula está presente en las células de los MC y que puede jugar un papel importante en la inhibición de las vías de apoptosis en los MC, y por lo tanto en su patogénesis. Se ha informado que la expresión de survivina aumenta la densidad

microvascular en cáncer de colon³³. De igual manera, la positividad de esta proteína en los MC podría ser en parte responsable del número elevado de vasos sanguíneos observados en estos tumores, lo que igualmente podría jugar un papel importante en su patogénesis. En nuestro estudio, la variante 2B presentó positividad más intensa y en todos los casos, en comparación con la menor intensidad y en menor número de casos de la variante $\Delta Ex3$; esto pudiera explicar en parte el comportamiento benigno de estas neoplasias. La identificación de la survivina en los MC puede ser útil a futuro en el desarrollo de terapias, bajo la premisa de que al suprimir la función de la survivina se incremente la tasa de apoptosis y se evite así la tumorigénesis. Estudios ulteriores podrían determinar si los agentes contra la survivina y sus variantes puedan atenuar la sobrevida de las líneas celulares de los mixomas. La survivina se ha correlacionado con recurrencia en algunos tipos de cáncer y su acción podría estar implicada en la recurrencia de los MC, que aunque baja en casos esporádicos, puede ser de hasta el 22% en casos familiares. El desarrollo de terapias específicas a los subtipos de survivina es posible, y dada la expresión de estas proteínas en los MC, esto ofrecería más posibilidades de cura a los pacientes con estas neoplasias.

En resumen, aún cuando las características generales de los MC son las de un tumor benigno, las ocasionales recurrencias, metástasis y los raros informes de transformación maligna, hacen que este sea un tumor con relevancia clínica importante. La positividad en nuestra serie para los marcadores novedosos CD133 y survivina-2B y survivina- $\Delta Ex3$, apuntan hacia una mejor comprensión del origen y la génesis de estos tumores. Es necesario que estos resultados se intenten replicar en series más grandes y en estudios prospectivos para evaluar posibles correlaciones pronósticas y terapéuticas.

REFERENCIAS

1. Reynen, K. Cardiac myxomas. *The New England journal of medicine* **333**, 1610–7 (1995).
2. Yoon, D. H. A. & Roberts, W. Sex distribution in cardiac myxomas. *The American journal of cardiology* **90**, 563–5 (2002).
3. Gošev, I. *et al.* Cardiac myxoma the great imitators: Comprehensive histopathological and molecular approach. *International journal of cardiology* (2012).
4. Losada Grande, E. J., Al Kassam Martínez, D. & González Boillos, M. [Carney complex]. *Endocrinología y nutrición : órgano de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición* **58**, 308–14 (2011).
5. Gopalakrishnaiah Gupta, K. *et al.* Congenital myxoma of the heart. *Indian journal of pediatrics* **23**, 210–2 (1956).
6. Wold, L. E. & Lie, J. T. Cardiac myxomas: a clinicopathologic profile. *The American journal of pathology* **101**, 219–40 (1980).
7. Mizrak, D., Brittan, M. & Alison, M. R. CD133: molecule of the moment. *The Journal of pathology* **214**, 3–9 (2008).
8. Yamazaki, K. An ultrastructural and immunohistochemical study of elastofibroma: CD 34, MEF-2, prominin 2 (CD133), and factor XIIIa-positive proliferating fibroblastic stromal cells connected by Cx43-type gap junctions. *Ultrastructural pathology* **31**, 209–19 (2007).
9. Schneider, M. *et al.* Characterization of colon cancer cells: a functional approach characterizing CD133 as a potential stem cell marker. *BMC cancer* **12**, 96 (2012).
10. Lin, Y.-S. *et al.* Survivin expression in cardiac myxoma. *Chang Gung medical journal* **34**, 360–6 (2011).
11. Burke AP, T. H. *WHO Classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of lung, pleura, thymus and heart.* 260–263 (IARC Press: Lyon, 2004).
12. Skamrov, a V *et al.* Gene expression analysis to identify mRNA markers of cardiac myxoma. *Journal of molecular and cellular cardiology* **37**, 717–33 (2004).
13. Orlandi, a *et al.* Cardiac myxoma cells exhibit embryonic endocardial stem cell features. *The Journal of pathology* **209**, 231–9 (2006).

14. Pucci, A., Bartoloni, G., Tessitore, E., Carney, J. A. & Papotti, M. Cytokeratin profile and neuroendocrine cells in the glandular component of cardiac myxoma. *Virchows Archiv : an international journal of pathology* **443**, 618–24 (2003).
15. Terracciano, L. M. *et al.* Calretinin as a marker for cardiac myxoma. Diagnostic and histogenetic considerations. *American journal of clinical pathology* **114**, 754–9 (2000).
16. Acebo, E., Val-Bernal, J. F. & Gómez-Román, J. J. Prichard's structures of the fossa ovalis are not histogenetically related to cardiac myxoma. *Histopathology* **39**, 529–35 (2001).
17. Markwald, R. R., Fitzharris, T. P. & Manasek, F. J. Structural development of endocardial cushions. *The American journal of anatomy* **148**, 85–119 (1977).
18. PRICHARD, R. W. Tumors of the heart; review of the subject and report of 150 cases. *A.M.A. archives of pathology* **51**, 98–128 (1951).
19. Kodama, H., Hirotsu, T., Suzuki, Y., Ogawa, S. & Yamazaki, K. Cardiomyogenic differentiation in cardiac myxoma expressing lineage-specific transcription factors. *The American journal of pathology* **161**, 381–9 (2002).
20. Curley, M. D. *et al.* CD133 expression defines a tumor initiating cell population in primary human ovarian cancer. *Stem cells (Dayton, Ohio)* **27**, 2875–83 (2009).
21. Neuzil, J. *et al.* Tumour-initiating cells vs. cancer “stem” cells and CD133: what's in the name? *Biochemical and biophysical research communications* **355**, 855–9 (2007).
22. Bidlingmaier, S., Zhu, X. & Liu, B. The utility and limitations of glycosylated human CD133 epitopes in defining cancer stem cells. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)* **86**, 1025–32 (2008).
23. Shmelkov, S. V, St Clair, R., Lyden, D. & Rafii, S. AC133/CD133/Prominin-1. *The international journal of biochemistry & cell biology* **37**, 715–9 (2005).
24. Fargeas, C. A., Corbeil, D. & Huttner, W. B. AC133 antigen, CD133, prominin-1, prominin-2, etc.: prominin family gene products in need of a rational nomenclature. *Stem cells (Dayton, Ohio)* **21**, 506–8 (2003).
25. Weigmann, a, Corbeil, D., Hellwig, a & Huttner, W. B. Prominin, a novel microvilli-specific polytopic membrane protein of the apical surface of epithelial cells, is targeted to plasmalemmal protrusions of non-epithelial cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**, 12425–30 (1997).

26. Terry, J. & Nielsen, T. Expression of CD133 in synovial sarcoma. *Applied immunohistochemistry & molecular morphology : AIMM / official publication of the Society for Applied Immunohistochemistry* **18**, 159–65 (2010).
27. Chandele, A., Prasad, V., Jagtap, J. C., Shukla, R. & Shastry, P. R. Upregulation of survivin in G2/M cells and inhibition of caspase 9 activity enhances resistance in staurosporine-induced apoptosis. *Neoplasia (New York, N.Y.)* **6**, 29–40 (2004).
28. Caldas, H. *et al.* Survivin splice variants regulate the balance between proliferation and cell death. *Oncogene* **24**, 1994–2007 (2005).
29. Li, F. & Ling, X. Survivin study: an update of “what is the next wave”? *Journal of cellular physiology* **208**, 476–86 (2006).
30. Li, F. Role of survivin and its splice variants in tumorigenesis. *British journal of cancer* **92**, 212–6 (2005).
31. Mahotka, C. *et al.* Differential subcellular localization of functionally divergent survivin splice variants. *Cell death and differentiation* **9**, 1334–42 (2002).
32. Ling, X. *et al.* Differential expression of survivin-2B and survivin-DeltaEx3 is inversely associated with disease relapse and patient survival in non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)* **49**, 353–61 (2005).
33. Kawasaki, H. *et al.* Expression of survivin correlates with apoptosis, proliferation, and angiogenesis during human colorectal tumorigenesis. *Cancer* **91**, 2026–32 (2001).

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN ESTUDIOS DE POSGRADO

CENTRO MÉDICO ABC



FACULTAD DE MEDICINA



Methodist Methodist
International