



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

CLASIFICACIÓN MOLECULAR DE LOS MEDULOBLASTOMAS
EN LOS PACIENTES DEL HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ.

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

PATOLOGÍA PEDIÁTRICA

P R E S E N T A

DR. FERNANDO JOEL VILLAVICENCIO ZEPEDA

DIRECTOR DE TESIS: DRA. MARÍA DEL PILAR EGUÍA AGUILAR



Ciudad de México, Febrero 2016



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).

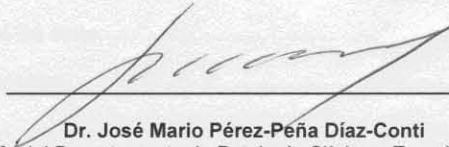
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

HOJA DE FIRMAS

Dra. Rebeca Gómez Chico Velasco
Directora de Enseñanza y Desarrollo Académico



Dra. María del Pilar Eguía Aguilar
Investigador en Ciencias Médicas
Laboratorio de Biología Molecular del Departamento de
Patología Clínica y Experimental
Diseño y asesoramiento experimental



Dr. José Mario Pérez-Peña Díaz-Conti
Jefe del Departamento de Patología Clínica y Experimental
Valoración de muestras con tejido viable, revisor de casos.

A mi esposa Sheila,
a mis suegros Bertha y Alfredo,
y a mi hija Romina,
por su apoyo incondicional.

INDICE

Carátula.....	1
Hoja de firmas.....	2
Dedicatorias.....	3
Índice.....	4
Resumen.....	5
Introducción	6
Antecedentes.....	7
Marco teórico.....	8
Planteamiento del problema.....	42
Pregunta de investigación.....	43
Justificación.....	44
Objetivos.....	45
Hipótesis.....	46
Metodología.....	47
Consideraciones éticas.....	53
Plan de análisis de los datos.....	54
Descripción de variables.....	55
Resultados.....	56
Discusión.....	59
Conclusiones.....	61
Limitaciones del estudio.....	63
Cronograma.....	64
Bibliografía.....	65

RESUMEN

Los tumores embrionarios incluyen una constelación de neoplasias que surgen de forma más común durante la niñez, representan un grupo heterogéneo de neoplasias generalmente compuestas por células indiferenciadas que se asemejan a las que surgen del sistema de órganos del embrión. Estos se manifiestan con ataxia troncal y síntomas de hipertensión endocraneal. La nomenclatura de estos tumores se basa en la localización de las lesiones, representan aproximadamente el 20% de todos los tumores del sistema nervioso central en pacientes pediátricos y se encuentran en la región del cerebelo, cerebro y tienen una tendencia a propagarse a través del líquido cefalorraquídeo. Son especímenes de superficie externa suave, brillante, microscópicamente infiltrantes, con necrosis y hemorragia frecuentes macroscópicamente. Histológicamente los meduloblastomas y los neuroblastomas comparten histología similar, la mayoría tiene una elevada celularidad, marcada proliferación de células con una relación núcleo citoplasma aumentada a favor del núcleo, asociada con una prominente actividad mitótica y apoptosis, algunas lesiones pueden tener un gran núcleo ser o multinucleadas. Las Pseudorrosetas de Homer–Wright son evidentes en una tercera parte de los meduloblastomas. Algunos tumores pueden mostrar evidencia de diferenciación a células ganglionares o gliales y ejemplos raros con diferenciación miogénica o melanocítica han sido descritos. La variante desmoplásica del meduloblastoma está caracterizada por áreas nodulares con zonas libres de reticulina, este subtipo tiene tendencia localizarse en partes laterales del cerebelo y ha sido descrito como de mejor pronóstico. La inmunohistoquímica en los tumores embrionarios muestra evidencia de diferenciación neural y ultraestructuralmente la mayoría de tumores de este grupo demuestran evidencia de diferenciación neural como estructuras de tipo sináptico, granulos secretores densos y túbulos neurales.

INTRODUCCIÓN

Todos los meduloblastomas se clasifican como tumores grado IV patológicamente. Se agrupan en cuatro subgrupos moleculares a saber. WNT, SHH, grupos 3 y 4, identificados usando varios métodos de alto rendimiento. La conferencia de consenso de la OMS celebrada en junio de 2015 reconoció la importancia de estos grupos biológicos e introdujo las siguientes entidades definidas genéticamente de meduloblastoma en la clasificación de la OMS revisada de tumores del SNC que se publicó en 2016. Estos subgrupos moleculares fueron descritos utilizando técnicas de inmunohistoquímica (IHC), hibridación in situ con fluorescencia (FISH), PCR cuantitativa que proporcionaron resultados rápidos y reproducibles en tejido fijado en formol y embebido en parafina. Estas técnicas son de utilidad para el patólogo y pueden ser aplicables en laboratorios de todo el mundo. La creación de un panel, para un sistema de estadificación de riesgo por niveles de subgrupo molecular en meduloblastomas es un reto, y es significativo al correlacionarlo con parámetros clínico-patológicos y supervivencia del paciente. El tratamiento post-operatorio estándar no sólo incluye la radioterapia local, sino también la radiación craneoespinal y quimioterapia. Un tercio de los pacientes son incurables, mientras que los supervivientes a largo plazo sufren de déficits neurológicos permanentes resultantes de terapias intensivas administradas al cerebro del niño en desarrollo. Se requieren marcadores moleculares para la estratificación del riesgo, por lo que en los pacientes con riesgo estándar se puede ahorrar un tratamiento excesivo y la supervivencia de los pacientes de alto riesgo puede ser mejorada. La comprensión de los mecanismos moleculares que subyace en la patogénesis de los meduloblastomas es crucial para el diseño de terapias novedosas, que podrían ser más eficaces y libre de efectos secundarios indeseables.

ANTECEDENTES

Los tumores embrionarios incluyen una constelación de neoplasias que surgen de forma más común durante la niñez. La nomenclatura de estos tumores se basa en la localización de las lesiones ¹. El tumor prototipo de este grupo es el meduloblastoma ¹. Representa aproximadamente el 20% de todos los tumores pediátricos del SNC ². Se manifiestan comúnmente con ataxia troncal y síntomas de hipertensión endocraneal. Una lesión cerebral que imita a esta es el neuroblastoma, estas se asocian comúnmente con síntomas de déficit de nervios craneales focal, dolor de cabeza y convulsiones¹. Existe ligera preponderancia en hombres para estas lesiones, así como para tumor rabdoide/teratoide atípico. En la resonancia magnética estos tumores presentan un decremento de la intensidad en T1 y de la densidad o isodensidad en T2 ¹. El defecto genético más comúnmente asociado envuelve al cromosoma 17 ¹. Una característica particular del tumor rabdoide/teratoide es la deleción del cromosoma 22 ¹.

La mayoría de los meduloblastomas tiene una elevada celularidad, son especímenes de superficie externa suave, brillante, microscópicamente infiltrantes ¹. La necrosis y hemorragia son características macroscópicas comunes de estas lesiones ¹. Histológicamente los meduloblastomas y los neuroblastomas tienen histología similar que consta de una marcada proliferación de células con una relación núcleo citoplasma aumentada a favor del núcleo, asociada con una prominente actividad mitótica y apoptosis, algunas lesiones pueden tener un gran núcleo o ser multinucleadas¹. Las pseudorrosetas de Homer–Wright son evidentes en una tercera parte de los meduloblastomas¹. Algunos tumores pueden mostrar evidencia de diferenciación a células ganglionares o gliales y ejemplos raros con diferenciación miogénica o melanocítica han sido descritos ¹. La variante desmoplásica del meduloblastoma está caracterizada por áreas nodulares con zonas libres de reticulina, este subtipo tiene tendencia a localizarse en partes laterales del cerebelo y esto ha sido descrito como de mejor pronóstico, otras lesiones embrionarias incluyen meduloepiteliomas, pineoblastoma, ependimoblastomas ¹. La inmunohistoquímica en los tumores embrionarios muestra evidencia de diferenciación neural y la ultraestructural de la mayoría de tumores de este grupo demuestra evidencia de diferenciación neural como estructuras de tipo sináptico, granulos secretores densos y túbulos neurales ¹. El pronóstico depende del tipo de tumor, los meduloblastomas están asociados con mejor sobrevida en contraste con los neuroblastomas con rango de sobrevida del 30% a los 5 años ¹.

Es por eso que los de localización cerebelosa históricamente se han denominado meduloblastomas, mientras que los de la región pineal son pinealoblastomas y los supratentoriales se conocen como neuroblastoma central o tumor neuroectodérmico primitivo (Sierrasesumaga, 2004) ¹. En los últimos 10 años, nuestra comprensión sobre la biología del meduloblastoma se ha incrementado dramáticamente, principalmente a través de los avances en genómica integrada ^{3, 4, 5, 6, 7, 8}. En 2010, en una conferencia de consenso en Boston, Massachusetts, fue acordado por un grupo de trabajo de meduloblastoma que hay por lo menos cuatro subgrupos transcripcionales de meduloblastoma⁷. Estos cuatro subgrupos denominados WNT, SHH, Grupo 3 y Grupo 4 se aceptan ahora como entidades biológicas distintas y continuos esfuerzos están en marcha para adaptar el tratamiento a cada uno de estos grupos, y evaluar si este enfoque puede mejorar los resultados. Una reunión de consenso subsecuente en Perth, Australia, definió los criterios diagnósticos de los cuatro subgrupos⁹. La conferencia de consenso de la OMS celebrada en junio de 2015 reconoció la importancia de estos grupos biológicos e introdujo las entidades definidas genéticamente del meduloblastoma.

MARCO TEÓRICO

Organización Mundial de la Salud

La Clasificación de la Organización Mundial de la Salud de los tumores del sistema nervioso central 2016 es un avance conceptual y práctico a su predecesor de 2007 ¹⁰. Por primera vez, la clasificación de la OMS de los tumores del sistema nervioso central utiliza parámetros moleculares además de la histología para definir muchas entidades tumorales, por lo tanto, la formulación de un concepto de cómo los diagnósticos de tumores del SNC deben estructurarse en la era molecular ¹⁰. Como tal, la OMS 2016 SNC presenta una importante reestructuración de los gliomas difusos, meduloblastomas y otros tumores embrionarios, e incorpora nuevas entidades que se definen por lo tanto de la histología y las características moleculares, incluyendo al glioblastoma, el glioblastoma IDH-de tipo salvaje y; el glioma difuso de la línea media IDH-mutante, H3 K27M-mutante; ependimoma fusión positivo RELA; meduloblastoma, WNT-activa y meduloblastoma, SHH-activa; y tumor embrionario con rosetas de varias capas, C19MC-alterada ¹⁰.

Definición

Es un tumor neuroepitelial embrionario que se presenta en el cerebelo o el tallo cerebral dorsal, que se presenta principalmente en la infancia y que consiste en células densamente compactas pequeñas redondas indiferenciadas con ligero a moderado pleomorfismo nuclear y un alto recuento mitótico.

El meduloblastoma es el tumor embrionario del SNC más común y el tumor maligno más común de la infancia. Ahora se clasifica en variantes moleculares (es decir, genéticas) así como variantes morfológicas, todas con utilidad clínica. La mayoría de los meduloblastomas surgen en el cerebelo, pero la variante activada por WNT tiene su origen en células del tallo cerebral dorsal que se derivan del labio inferior rombóico. Las variantes del meduloblastoma muestran una amplia gama de características morfológicas, incluyendo diferenciación neurocítica y ganglionar, y comportamientos biológicos distintos. Al hacer un diagnóstico de meduloblastoma, es importante excluir entidades histopatológicamente similares que surgen en la fosa posterior, como los gliomas de células pequeñas de alto grado, el tumor embrionario con rosetas multicapa y los tumores teratoides / rabdoides atípicos.

Clasificación

Independientemente de su caracterización histológica o genética, los meduloblastomas corresponden histológicamente al grado IV de la OMS.

Meduloblastoma, NOS

El diagnóstico de meduloblastoma, NOS, es apropiado cuando un tumor neural embrionario se localiza en el cuarto ventrículo o cerebelo y la naturaleza del tejido biopsiado impide la clasificación del tumor en una de las categorías genéticamente o histológicamente definidas de meduloblastoma. Esta situación suele surgir cuando hay incertidumbre sobre las características arquitectónicas y citológicas de un tumor como resultado de un muestreo de tejido insuficiente o la presencia de artefactos de tejido. Para el diagnóstico de meduloblastoma, NOS, es importante excluir entidades

histopatológicamente similares, tales como gliomas de células pequeñas de alto grado, tumor embrionario con rosetas multicapa y tumores teratoides / rabdoideas atípicos.

Código CIE-0 9470/3

Epidemiología

Incidencia

El meduloblastoma es el tumor embrional del SNC más común de la infancia. De todos los tumores cerebrales pediátricos, el meduloblastoma es el segundo en frecuencia antecedido sólo por el astrocitoma pilocítico y representa el 25% de todas las neoplasias intracraneales. La incidencia anual de meduloblastoma es de 1,8 casos por 1 millón de habitantes, mientras que la incidencia anual de en la infancia es de 6 casos por cada 1 millón de niños; Estas tasas de incidencia no han cambiado con el tiempo. Como es el caso con otros tumores cerebrales de alto grado, la incidencia de meduloblastoma difiere entre etnias. En los EE. UU., La incidencia anual general es más alta entre los blancos no hispanos (2,2 casos por 1 millón de habitantes), seguidos por los hispanos (2,1 por 1 millón) y los afroamericanos (1,5 por 1 millón) [<http://www.cbtrus.Org/2011-NPCR-SEER/WEB-0407-Report-3-3-2011.pdf>]. Casi un cuarto de todos los meduloblastomas ocurren en adultos, pero <1% de los tumores intracraneales de adultos son meduloblastomas.

Distribución de edad y sexo

La edad media del paciente en el diagnóstico de meduloblastoma es de 9 años, con picos de incidencia a los 3 y 7 años de edad. De todos los pacientes con meduloblastoma, el 77% tienen menos de 19 años. El tumor tiene una relación general de hombre a mujer de 1,7: 1. Entre los pacientes mayores de 3 años, la proporción de hombres a mujeres es de 2: 1, pero las tasas de incidencia entre niños y niñas menores de 3 años son iguales. Los diferentes grupos moleculares y las variantes histopatológicas del meduloblastoma tienen diferentes distribuciones de edad.

Localización

Los meduloblastomas crecen en el cuarto ventrículo o se localizan en el parénquima cerebeloso. Algunos tumores cerebelosos pueden localizarse lateralmente en un hemisferio.

Características clínicas

Meduloblastomas que crecen en el cuarto ventrículo causan aumento de la presión intracraneal ejerciendo efecto de masa y bloqueando las vías del líquido cefalorraquídeo. Por lo tanto, la mayoría de los pacientes presentan una historia corta de presión intracraneal elevada: dolor de cabeza que aumenta en frecuencia y gravedad, náuseas frecuentes al despertar y episodios de vómitos. La ataxia cerebelosa es común. Los síntomas y los signos relacionados con la compresión de los nervios craneales o los trazos largos que pasan a través del tronco encefálico son infrecuentes.

Propagación

Al igual que otros tumores embrionarios, el meduloblastoma tiene una propensión a propagarse a través de las vías del líquido cefalorraquídeo para sembrar el neuraxis con

depósitos de tumores metastásicos. Rara vez, se extiende a los sistemas orgánicos fuera del SNC, particularmente a los huesos y al sistema linfático. Los informes de metástasis al peritoneo implican shunts ventriculoperitoneales.

Macroscopía

La mayoría de los meduloblastomas surgen en la región del vermis cerebeloso, como masas rosadas o grises a menudo friables que llenan el cuarto ventrículo. Los meduloblastomas localizados en los hemisferios cerebelosos tienden a ser firmes y más circunscritos, y generalmente corresponden a la variante desmoplásica / nodular con la activación de la vía SHH. Pequeños focos de necrosis pueden ser claramente evidentes, pero la necrosis extensa es rara. En el meduloblastoma diseminado, a menudo se encuentran nódulos tumorales discretos en las leptomeninges craneoespinales o en las vías del líquido cefalorraquídeo.

Microscopía

Se reconocen varias variantes morfológicas del meduloblastoma, junto con el tumor clásico: meduloblastoma desmoplásico / nodular, meduloblastoma con nodularidad extensa y meduloblastoma de células grandes / anaplásico. Sus particularidades microscópicas arquitectónicas y citológicas se describen en las secciones correspondientes de este volumen. Una población dominante de células indiferenciadas con una elevada relación entre el núcleo y el citoplasma y figuras mitóticas son una característica común, justificando la designación "embrionario", pero es importante considerar otras entidades en el diagnóstico diferencial. Los gliomas de células pequeñas de alto grado y algunos ependimomas tienen una citología de tipo embrionario y los elementos del tumor embrionario con rosetas multicapa o tumor teratoide / rabdoide atípico pueden ser idénticos al meduloblastoma. Cualquiera de estas entidades puede confundirse con el meduloblastoma, especialmente en pequeñas biopsias, por lo que determinar el inmunofenotipo o perfil genético de un tumor es una parte importante del trabajo a través del diagnóstico diferencial.

Dos variantes morfológicas distintivas del meduloblastoma se describen en esta sección, ya que pueden ocurrir en el establecimiento de un tumor clásico o de células grandes / anaplásico y ya no se consideran variantes histopatológicas distintas. Estos son la rara variante (que representan el <1% de los casos) de meduloblastoma con diferenciación miogénica (anteriormente llamado medulomioblastoma) y meduloblastoma con diferenciación melanótica (anteriormente denominado meduloblastoma melanocítico). Aunque estos tumores son muy raros, no es raro que sus fenotipos ocurran juntos.

Además de un elemento embrionario convencional, el meduloblastoma con diferenciación miogénica contiene un número variable y distribución de células rabdomioblásticas en forma de huso y a veces células grandes con abundante citoplasma eosinofílico. Ocasionalmente, son evidentes las células alargadas de la correa diferenciada, con las estriaciones cruzadas del músculo esquelético.

El meduloblastoma con diferenciación melanótica contiene un pequeño número de células productoras de melanina, que a veces forman grumos. Estos pueden aparecer totalmente indiferenciados (como otras células embrionales) o tener un fenotipo

epiteliode. Las células productoras de melanina epitelioides pueden formar túbulos, papilas o grupos de células.

Inmunofenotipo

Aunque algunos meduloblastomas no expresan antígenos neurales, la expresión de marcadores de diferenciación neuronal es común. La inmunoreactividad para la sinaptofisina, la clase III de beta-tubulina, o NeuN se demuestra por lo menos focalmente en la mayoría de los meduloblastomas. Las rosetas de Homer Wright y los nódulos de diferenciación neurocítica son inmunopositivos para estos marcadores. Por el contrario, la expresión de los PFN es rara. Las células GFAP-inmunopositivas se encuentran a menudo entre las células embrionales indiferenciadas de un meduloblastoma; Sin embargo, generalmente muestran la apariencia típica de araña de los astrocitos reactivos y tienden a ser más abundantes cerca de los vasos sanguíneos. Estas células se consideran generalmente astrocitos atrapados, aunque la observación de células similares en depósitos metastásicos extra cerebrales plantea la posibilidad de que al menos algunos sean astrocitos neoplásicos bien diferenciados. Las células que muestran inmunoreactividad GFAP y características citológicas de neoplasia benigna se pueden observar en aproximadamente 10% de los meduloblastomas. En el meduloblastoma con diferenciación miogénica, las células que demuestran diferenciación miogénica son inmunopositivas a la desmina o a miogenina, pero no alfa-SMA. En los meduloblastomas con diferenciación melanótica, las células productoras de melanina expresan HMB45 o melan-A, y los grupos de células epitelioides asociadas con la producción focal de melanina generalmente muestran inmunoreactividad para citoqueratinas. La expresión nuclear SMARCB1 y SMARCA4 se conserva en todas las variantes del meduloblastoma; La pérdida de expresión de una de estas proteínas complejas SWI / SNF en el contexto de un tumor embrionario es característica del tumor teratoide / rabdoide atípico.

Predisposición genética

Los meduloblastomas se presentan en el contexto de varios síndromes de cáncer hereditario: síndrome de carcinoma basocelular naevoide (también llamado síndrome de Gorlin, véase página 319), síndrome de Li-Fraumeni; Ver pág. 310), el síndrome de cáncer de reparación de desajuste (síndrome de Turcot, pág. 317), síndrome de Rubinstein-Taybi y síndrome de ruptura de Nijmegen.

La susceptibilidad genética al meduloblastoma ha sido documentada en gemelos monocigóticos, hermanos y familiares. También se ha informado de la asociación con otros tumores cerebrales y tumor de Wilms.

Meduloblastomas, definidos genéticamente

Meduloblastoma, activado por WNT

Definición

Tumor embrionario del cerebelo / cuarto ventrículo compuesto por pequeñas células uniformes con núcleos redondos u ovals que demuestran la activación de la vía de señalización del WNT.

Casi todos los meduloblastomas activados por WNT son tumores clásicos. Tumores activados por WNT con una morfología anaplásica han sido reportados, pero

son muy raros. La activación de la vía WNT que es característica de este meduloblastoma puede demostrarse por la acumulación de inmunorreactividad de beta-catenina en los núcleos de las células tumorales, pero una evaluación óptima combina este método con la detección de la mutación monosomía 6 o CTNNB1; Aproximadamente el 85% de los meduloblastomas activados por WNT definidos por inmunohistoquímica o perfilación de expresión génica demuestran monosomía 6 y / o albergan una mutación CTNNB1. Se cree que el meduloblastoma activado por WNT se origina en el tronco cerebral dorsal para llenar al cuarto ventrículo. Los tumores activados por WNT representan aproximadamente el 10% de todos los meduloblastomas. La mayoría de los casos se presentan en niños entre 7 y 14 años, pero también pueden ocurrir en adultos jóvenes. Esta variante tiene un excelente pronóstico con enfoques terapéuticos estándar. Además de CTNNB1, los genes mutados que se recurren en meduloblastomas WNT-activados incluyen TP53, SMARCA4, y DDX3X.

Código CIE-0 9475/3

Clasificación

El meduloblastoma activado con WNT corresponde histológicamente al grado IV de la OMS. Sin embargo, esta variante genéticamente definida tiene un excelente pronóstico con abordajes terapéuticos estándar.

Epidemiología

Los tumores activados por WNT representan aproximadamente el 10% de todos los meduloblastomas. Típicamente ocurren en niños mayores y también representan una proporción significativa (-15%) de meduloblastomas adultos, pero casi nunca ocurren en niños.

Localización

Algunos informes indican que los meduloblastomas activados con WNT están todos localizados en la línea media cerebelosa, con o sin contacto cercano con el tronco encefálico, y un informe sugiere que estos tumores se localizan más precisamente en el pedúnculo cerebeloso o ángulo cerebelopontino.

Imagen

La RM de los meduloblastomas activados por WNT muestra tumores localizados en el ángulo cerebelar de la línea media / cerebelopontina, muchos de los cuales están en estrecho contacto con el tronco encefálico.

Microscopía

Casi todos los meduloblastomas activados por WNT tienen una morfología clásica; Se han descrito tumores anaplásicos activados con WNT, pero son muy raros. No se producen meduloblastomas desmoplásicos / nodulares en este grupo.

Inmunofenotipo

Los meduloblastomas activados con WNT tienen la misma proteína neural inmunofenotípica como otros meduloblastomas clásicos. Su fracción de crecimiento estimada por el índice de proliferación Ki-67 también es la misma. Casi todos los

meduloblastomas muestran cierta inmunorreactividad citoplásmica para la beta-catenina, pero los tumores activados con WNT muestran inmunoreactividad nuclear de beta-catenina en la mayoría de las células, aunque la tinción puede ser irregular en aproximadamente una cuarta parte de los casos.

Célula de origen

Se cree que los meduloblastomas activados por WNT surgen de células en el tronco cerebral dorsal que se originan a partir del labio inferior rombótico. La huella dactilar de metilación del ADN de estos tumores, que podría ser la mejor evidencia para la célula de origen en tejidos humanos, indica que el meduloblastoma activado por WNT tiene un perfil distinto del de otros subgrupos de meduloblastoma.

Perfil genético

Un meta-análisis reciente de todos los grandes conjuntos de datos de secuenciación de próxima generación mostró que aproximadamente el 90% de los meduloblastomas activados por WNT contenían mutaciones somáticas en el exón 3 de CTNNB1. Otros genes recurrentemente mutados en los meduloblastomas activados con WNT incluyen DDX3X (en el 50% de los casos), SMARCA4 (en 26,3%), KMT2D (en 12,5%) y TP53 (en 12,5%). Además de la mutación CTNNB1, la monosomía 6 se ha establecido desde hace mucho tiempo como una aberración genética característica en los meduloblastomas activados con WNT, que se producen en aproximadamente el 85% de los casos.

Predisposición genética

Existe una rara asociación entre la mutación germinal de APC y el meduloblastoma activado por WNT.

Factores pronósticos y predictivos

El pronóstico de los pacientes con meduloblastoma activado por WNT es excelente; Con los enfoques quirúrgicos actuales y los regímenes de terapia adyuvante, la supervivencia global es cercana al 100%. A diferencia de los meduloblastomas activados con SHH, las mutaciones TP53 en los meduloblastomas activados con WNT (todos somáticos y más frecuentemente heterocigotos) no confieren un peor pronóstico. Los biomarcadores predictivos aún no se han establecido dentro del grupo molecular activado por WNT.

Meduloblastoma, activado por SHH

Meduloblastoma, SHH-activado y TP53-mutante

Definición

Tumor embrionario del cerebelo con evidencia de activación de la vía SHH y mutación germinal o TP53 somática.

En una gran serie de tumores, los meduloblastomas activados con SHH tienden a tener perfiles de transcriptoma, metiloma y micro-ARN similares. La activación de la vía SHH en tumores TP53 mutantes se asocia con la amplificación de GLI2, MYCN o SHH.

Las mutaciones en PTCH1, SUFU y SMO están generalmente ausentes. La morfología de células grandes / anaplásicas y la pérdida de cromosomas 17p también son comunes en tumores activados por SHH y TP53-mutantes. Los patrones de rompimiento de cromosomas conocidos como cromotripsia a menudo están presentes.

Los tumores SHH-activados representan aproximadamente el 30% de todos los meduloblastomas y se originan a partir de los precursores de neuronas de gránulos cerebelosos derivadas de labios rómbicos, cuya proliferación depende de la actividad de señalización SHH. Los meduloblastomas activados por SHH y TP53 son raros y generalmente se encuentran en niños de 4 a 17 años. Los resultados clínicos en pacientes con tumores SHH-activados y TP53-mutantes son muy pobres.

Código CIE-0 9476/3

Meduloblastoma, SHH-activado y TP53-tipo salvaje

Definición

Tumor embrionario del cerebelo con evidencia molecular de la activación de la vía SHH y un locus TP53 intacto. La activación de la vía SHH en tumores TP53 de tipo salvaje puede estar asociada con mutaciones germinales o somáticas en los reguladores negativos PTCH1 o SUFU, así como activar mutaciones somáticas en SMO o (rara vez) amplificación de GLI2. Los meduloblastomas desmoplásicos / nodulares y los meduloblastomas con nodularidad extensa se incluyen siempre en el grupo activado por SHH, pero los tumores con una firma de vía de señalización hedgehog también pueden tener una morfología clásica o de células grandes / anaplásicas, particularmente en niños mayores.

Los pacientes con meduloblastomas activados SHH y TP53-wildtype son generalmente niños menores de 4 años, adolescentes o adultos jóvenes. Además de los cambios genéticos que activan la señalización SHH, a veces se ven mutaciones en DDX3X o KMT2D y amplificación de MYCN o MYCL, así como deleciones de los brazos cromosómicos 9q, 10q y 14q. Los resultados clínicos en pacientes con tumores activados SHH son variables.

Código CIE-0 9471/3

Clasificación

Al igual que todos los meduloblastomas, el meduloblastoma activado por SHH y TP53 mutado y el meduloblastoma activado por SHH y TP53 de tipo salvaje corresponden histológicamente al grado IV de la OMS.

Epidemiología

Los datos de SEER de 1973-2007 sugieren tasas de incidencia de meduloblastoma de 6,0 casos por 1 millón de niños de 1 a 9 años y 0,6 casos por 1 millón de adultos mayores de 19 años. Los meduloblastomas activados con SHH en general muestran una distribución bimodal de la edad, siendo más común en lactantes y adultos jóvenes, con una relación hombre mujer de aproximadamente 1,5: 1. Por el contrario, los tumores SHH-activados y TP53-mutantes se encuentran generalmente en niños de 4-17

años. En un estudio que incluyó 133 meduloblastomas activados con SHH, 28 pacientes (21%) tuvieron una mutación TP53, y la edad mediana de estos pacientes fue de aproximadamente 15 años.

Localización

En un informe se propuso que los meduloblastomas activados con SHH involucraron principalmente el cerebelo lateral, un hallazgo relacionado con su origen a partir de los precursores de las neuronas granulares. Un estudio subsiguiente que incluyó 17 meduloblastomas activados por SHH se encontró que, aunque 9 de esos tumores eran hemisféricos, los otros 8 estaban centrados en el vermis o implicados de forma significativa. La localización de los tumores activados por SHH puede depender de la edad. Un tercer estudio encontró que, en los niños mayores y adultos jóvenes, los meduloblastomas activados con SHH crecen predominantemente en los hemisferios cerebelares rostrales, mientras que en los niños más frecuentemente involucran el vermis. Datos específicos sobre la localización de meduloblastomas SHH-activado y TP53-mutante o TP53 de tipo salvaje aún no están disponibles.

Imagen

En la TC y RM, los meduloblastomas se presentan como masas sólidas intensamente intensificadoras del contraste. Los meduloblastomas activados con SHH se identifican con mayor frecuencia en los hemisferios laterales, pero también pueden implicar estructuras de la línea media. El edema fue relativamente común en una serie de imágenes que incluía 12 meduloblastomas desmoplásicos / nodulares y 9 meduloblastomas con nodularidad extensa. Un patrón nodular similar a uvas en la IRM caracteriza a menudo el meduloblastoma con nodularidad extensa debido a la arquitectura nodular distintiva y difusa del tumor. Los meduloblastomas que afectan a los hemisferios cerebelosos periféricos en adultos ocasionalmente presentan lesiones extra-axiales semejantes a meningiomas o schwannomas de nervios acústicos.

Propagación

Los meduloblastomas tienen el potencial de invadir localmente, metastatizar a través del líquido cefalorraquídeo, o (más raramente) propagarse fuera del SNC. En general, los meduloblastomas activados con SHH son menos frecuentemente metastásicos que los tumores del grupo 3, pero la diseminación dentro del eje neuraxial es a menudo una característica de presentación del meduloblastoma activado por SHH y TP53 mutante. Se ha demostrado que los grupos moleculares de meduloblastoma, incluidos los tumores activados por SHH, se mantienen estables a comparación de lesiones primarias y metastásicas. Sin embargo, la mutación TP53 a veces puede verse en una recaída local o lejana, incluso cuando no está presente en el meduloblastoma primario.

Macroscopía

Algunos meduloblastomas activados por SHH tienden a ser firmes y más circunscritos que otros tumores, reflejando desmoplasia intratumoral. Los pequeños focos de necrosis pueden ser claramente evidentes, pero la necrosis extensa es rara en tumores activados por SHH.

Microscopía

Las variantes del meduloblastoma desmoplásico / nodular y nodularidad extensa siempre se incluyen en el grupo SHH-activado, pero este grupo molecular también puede tener una morfología clásica o de células grandes / anaplásico. En un estudio, se observó anaplasia difusa en el 66% de todos los meduloblastomas activados por SHH y TP53, pero en menos del 10% de los tumores de tipo salvaje TP53.

Inmunofenotipo

La expresión génica y el perfil de metilación siguen siendo el patrón de oro para definir los grupos moleculares de meduloblastoma. Sin embargo, los meduloblastomas activados con SHH expresan una firma de señalización hedgehog activada, y se ha encontrado que varias proteínas son útiles como marcadores sustitutos para esta actividad, incluyendo GAB1, TNFRSF16 y SFRP1. Un estudio definió un método inmunohistoquímico de diagnóstico que puede distinguir entre tumores activados con WNT, activados con SHH y no WNT / no SHH usando material embebido en parafina fijado con formalina. GAB1 y YAP1 son los marcadores inmunohistoquímicos que indican la activación SHH. El anticuerpo anti-GAB1 marcó sólo tumores con un perfil activado por SHH o mutación PTCH1, mientras que el anticuerpo anti-YAP1 marcó células tumorales tanto en meduloblastomas activados con WNT como activados SHH, pero no en meduloblastomas no WNT / no SHH.

Los meduloblastomas no desmoplásicos activados con SHH muestran generalmente inmunoreactividad generalizada y fuerte para GAB1 y YAP1, mientras que los tumores desmoplásicos / nodulares muestran una tinción más fuerte para estas proteínas dentro de las regiones internodulares.

Al igual que otros meduloblastomas, los meduloblastomas activados con SHH pueden expresar MAP2 y sinaptofisina. En los meduloblastomas activados con SHH con características de meduloblastoma con nodularidad extensa, el marcaje nuclear fuerte de NeuN se puede observar en islas grandes con diferenciación neurocítica avanzada. La acumulación patológica de p53 puede detectarse en una pequeña proporción de meduloblastomas activados por SHH, frecuentemente asociados con signos de anaplasia citológica. Esto se correlaciona con la mutación TP53 somática, y también se puede vincular a las mutaciones de la línea germinal TP53 (síndrome de Li-Fraumeni).

Célula de origen

Se cree que los meduloblastomas activados con SHH derivan de los precursores de las neuronas de gránulos cerebelosos positivos a ATOH1. También se ha sugerido que una proporción de meduloblastomas activados por SHH podrían surgir de los precursores de neuronas gránulos de los núcleos cocleares, un derivado del labio inferior rombótico auditivo del tronco encefálico. Aproximadamente la mitad de todos los pacientes con meduloblastoma SHH-activado y TP53-mutante tienen mutaciones TP53 en la línea germinal. Esto sugiere que esta mutación puede jugar un papel clave en la transformación temprana.

Perfil genético

Las mutaciones y otras alteraciones genéticas que activan la señalización hedgehog son los principales impulsores moleculares del meduloblastoma activado por SHH, con alteraciones que implican genes conocidos en 116 de los 133 tumores activados por SHH en un estudio reciente. PTCH1, el principal gen subyacente del síndrome de carcinoma basocelular nevoide, que predispone a los pacientes a desarrollar carcinoma basocelular y meduloblastoma, se asignó a 9q22 por análisis de ligamiento. La LOH en esta región también se ha demostrado en muchos meduloblastomas desmoplásicos / nodulares esporádicos. PTC1 es un inhibidor de la señalización hedgehog y es particularmente importante en el desarrollo del cerebelo. El ligando de vía SHH es secretado por células de Purkinje y es un mitógeno principal para progenitores de células de gránulos cerebelosos en la capa germinal externa. La activación de la vía se produce cuando el ligando de SHH se une a PTC1, liberando PTC1 de la inhibición de SMO y activando los factores de transcripción de GLI en los cilios primarios. Por lo tanto, la vía SHH puede activarse de forma aberrante por pérdida de la función PTC1 o actividad incrementada de los factores SHH, SMO o GLI.

Los estudios de expresión basados en la matriz temprana identificaron la señalización SHH activa en un subconjunto de meduloblastomas, que a menudo eran desmoplásicos / nodulares o meduloblastomas con nodularidad extensa. Los experimentos de perfil de expresión de ARNm más amplios confirmaron la existencia de este grupo, y fue adoptado como uno de los cuatro grupos moleculares principales por un panel de consenso internacional. El análisis de los perfiles de metilación en todo el genoma también ha apoyado la existencia de un grupo SHH-activado distinto, y pueden realizarse en tejido fijado con formalina. Pueden usarse también grupos más pequeños de genes asociados a SHH medidos usando tecnología de conteo de genes o RT-PCR cuantitativa para definir este grupo molecular con el propósito de clasificación clínica.

Las variaciones estructurales o mutaciones en el ADN son a menudo distintas a través de los diversos grupos moleculares de meduloblastoma. Las amplificaciones de alto nivel asociadas con el grupo activado por SHH incluyen loci que contienen MYCL, GLI2, PPM1D, YAP1 y MDM4. El locus MYCN se amplifica a menudo tanto en los meduloblastomas activados con SHH como en los meduloblastomas del grupo 4. Muchos de estos loci alterados tienen vínculos conocidos con la vía SHH. La expresión de MYCN está regulada directamente por los factores de transcripción de GLI tanto en los precursores de células granulares como en los tumores. YAP1 es también un objetivo conocido y efector importante de la señalización hedgehog en progenitores cerebelosos neoplásicos y no neoplásicos. Las deleciones homocigotas en los loci PTEN y PTCH1 también se han encontrado preferentemente o exclusivamente en tumores activados con SHH en comparación con otros grupos moleculares.

Las mutaciones somáticas son relativamente raras en el meduloblastoma en comparación con otros tumores, con una mediana de 12 mutaciones no silentes y silentes reportadas en un estudio de las regiones de codificación en 92 meduloblastomas primarios / normal muestra pares. En este y un estudio similar, las mutaciones en PTCH1, SUFU, y otros genes asociados con la vía de señalización hedgehog se encontraron exclusivamente en tumores SHH-activados. Sin embargo, en algunos tumores SHH-

activados, no se puede determinar una explicación genética clara para la activación de la vía SHH.

Las mutaciones puntuales somáticas más frecuentes se encuentran en el promotor TERT, lo que resulta en una mayor actividad de la telomerasa. Un análisis de 466 meduloblastomas reveló mutaciones de TERT en el 21% en general, con la mayor frecuencia - el 83% (55 de 66 casos) - identificado entre los casos adultos del grupo SHH-activado, en el que se relacionaron con buenos resultados. Las mutaciones puntuales en TP53, particularmente en los meduloblastomas activados SHH en lugar de activados WNT, se asocian con cromotripsia, en la cual los cromosomas se fragmentan y adquieren múltiples reordenamientos simultáneamente en un solo evento catastrófico. En general, la frecuencia de cambios genéticos específicos en los meduloblastomas activados con SHH parece ser algo diferente en lactantes, niños y adultos.

Predisposición genética

Mutaciones puntuales hereditarias en TP53 en el síndrome de Li-Fraumeni pueden resultar en meduloblastoma, y se ha demostrado que estos meduloblastomas pertenecen al grupo SHH-activado y son propensos a cromotripsia. Los pacientes cuyos tumores SHH activados portan mutación TP53 o cromotripsia deben someterse a pruebas de alteración en línea germinal, y este grupo de alto riesgo de tumores se considera variable distinta. Mutaciones en TP53 se encuentran más comúnmente en el ADN vinculante regiones codificadas por los exones 4 a 8. Aproximadamente la mitad de Todos los meduloblastomas activados por SHH y TP53 mutante han demostrado tener líneas germinales en lugar de alteraciones somáticas. Aunque algunos meduloblastomas activados por WNT tienen mutaciones en TP53, estos cambios han sido hasta ahora somáticos.

Otro síndrome hereditario asociado con el meduloblastoma activado por SHH es el síndrome de carcinoma basocelular naevoide (también llamado síndrome de Gorlin). Se caracteriza por múltiples carcinomas basocelulares de la piel, queratoquistes de mandíbula odontogénicos, meduloblastoma y anomalías del desarrollo. La mayoría de los casos de síndrome de carcinoma basocelular naevoide se deben a mutaciones germinales heterocigotas en PTCH1, con mutaciones identificadas en 97 de 171 pacientes (56%) en un estudio. Sin embargo, se cree que las mutaciones en PTCH1 y TP53 son mutuamente excluyentes. Las distribuciones de edad de estos grupos también difieren; Meduloblastomas con mutaciones germinales PTCH1 o SUFU están presentes en lactantes y niños menores de 4 años, mientras que aquellos con una mutación germinal TP53 ocurren en niños mayores.

Pronóstico y factores predictivos

Los meduloblastomas activados por SHH y los TP53 mutantes están asociados con un resultado muy pobre. En un estudio, la supervivencia global a 5 años de los pacientes con un meduloblastoma activado con SHH fue del 76% para aquellos con un tumor TP53 de tipo salvaje y 41% para aquellos con un tumor TP53 mutante. Factores clínicos de alto riesgo, como enfermedad metastásica, también están asociados con la

mutación TP53 dentro del grupo SHH-activado. Cada vez es más claro que algunos marcadores genéticos de pronóstico deben interpretarse dentro del contexto del grupo molecular. Por ejemplo, aunque se encontraron mutaciones de TP53 en el 16% de los tumores activados con WNT y en el 21% de los tumores activados SHH, se asociaron significativamente con un mal pronóstico sólo en tumores activados con SHH.

El resultado del paciente con meduloblastoma activado por SHH y TP53-tipo salvaje es variado y muestra una asociación significativa con características patológicas. Los meduloblastomas con nodularidad extensa en los bebés se observan para un buen pronóstico, y la mayoría de los tumores desmoplásicos / nodulares en este grupo de edad joven también tienen un resultado relativamente bueno. La situación de los meduloblastomas activados con SHH y de tipo TP53 con una morfología clásica o de células grandes / anaplásicas es menos clara, aunque estos parecen tener un resultado peor que los dos tipos de meduloblastoma desmoplásico, al menos en la infancia. Los factores moleculares que predicen la respuesta a las terapias dirigidas a SHH están empezando a surgir. Los inhibidores de moléculas pequeñas que actúan sobre el receptor SMO han demostrado ser eficaces en algunos meduloblastomas con activación hedgehog, pero no en otros grupos moleculares. Sin embargo, el meduloblastoma activado por SHH también puede ser resistente a los inhibidores de SMO, debido a la activación de la vía corriente abajo del bloqueo farmacológico. Dicha activación aguas abajo puede estar presente en el momento del diagnóstico o puede desarrollarse como un mecanismo de resistencia terapéutica. Se ha sugerido que el mecanismo genético de la activación de la vía está vinculado a la probabilidad de respuesta a la inhibición de SMO. Los adultos con meduloblastoma activado por SHH son más propensos a albergar alteraciones activadoras en PTCH1 o SMO dando como resultado tumores sensibles a inhibidores de SMO, mientras que los meduloblastomas activados por SHH de lactantes y niños (incluyendo tumores SHH activados y TP53 mutantes) SUFU, GLI2 y MYCN que son refractarios a estos agentes farmacológicos. Se ha sugerido que los agentes alquilantes que dañan el ADN y la radiación deben ser evitados siempre que sea posible cuando se trata a pacientes con una mutación de la línea germinal TP53.

Meduloblastoma, no-WNT / no SHH

Definición

Tumor embrionario del cerebelo formado por células poco diferenciadas y excluido de los grupos activado por WNT y activado por SHH mediante pruebas moleculares. Los meduloblastomas no-WNT / no SHH son meduloblastomas del grupo 3 o del grupo 4. Estos son tumores clásicos o de células grandes / anaplásicos que se agrupan en dos grupos en términos de perfiles de transcriptoma, metiloma y microARN analizados en grandes series de meduloblastomas. Distintos perfiles de metiloma probablemente reflejan una histogénesis diferente de los cuatro grupos de meduloblastoma, aunque los tumores de los grupos 3 y 4 son más similares entre sí que con los meduloblastomas activados por SHT o activados con SHH (ver Tabla 8.01, p.184).

El perfil de transcriptoma del grupo 3 se caracteriza por una expresión relativamente alta de MYC, y la amplificación de MYC está sobrerrepresentada en este grupo molecular. Los tumores de Grupo 4 se caracterizan por alteraciones recurrentes en KDM6A y SNCAIP, así como en otros genes. Los tumores no-WNT / no SHH representan

aproximadamente el 60% de todos los meduloblastomas y normalmente tienen características histopatológicas clásicas. La mayoría de los tumores no-WNT / no SHH presentes en la infancia; Son relativamente infrecuentes en lactantes y adultos.

Código CIE-0 9477/3

Epidemiología

Los meduloblastomas del grupo 3 representan aproximadamente el 20% de todos los casos, y una mayor proporción de casos (-45%) en los lactantes. El meduloblastoma del grupo 3 es extremadamente raro en adultos. Los meduloblastomas de Grupo 4 son el mayor grupo molecular, y representan alrededor del 40% de todos los tumores. La incidencia máxima se produce en pacientes de 5 a 15 años, con menor incidencia en lactantes y adultos.

Propagación

La enfermedad metastásica está presente en alrededor del 40% de los tumores del grupo 3 en el momento del diagnóstico, una presentación que es una característica particular de los meduloblastomas del grupo 3 en la infancia.

Microscopía

La mayoría de los meduloblastomas no-WNT / no SHH tienen una morfología clásica. Estos tumores ocasionalmente exhiben áreas de formación de rosetas o un patrón de empalizada de núcleos de células tumorales. La formación de nódulos puede ocurrir en ausencia de desmoplasia en meduloblastomas no-WNT / no SHH. Una preparación de reticulina no muestra hilos de colágeno alrededor o entre los nódulos, que de otro modo muestran una diferenciación neurocítica y una fracción de crecimiento reducida, de manera similar a los nódulos asociados con desmoplasia del meduloblastoma desmoplásico / nodular o meduloblastoma con nodularidad extensa. Los tumores de células grandes / anaplásicos en el grupo molecular no WNT / no SHH generalmente pertenecen al grupo 3.

Inmunofenotipo

El perfil inmunohistoquímico del marcador neural del meduloblastoma no WNT / no SHH es el mismo que el de los tumores clásicos o de células grandes / anaplásicos en los grupos activados con WNT o SHH. Los tumores expresan sinaptofisina en una extensión variable, y las células tumorales rara vez son inmunopositivas para GFAP. Con un panel de tres anticuerpos (a beta-catenina, GAB1 y YAP1), los tumores no WNT / no SHH muestran inmunoreactividad citoplasmática (pero no nuclear) de beta-catenina, y las células tumorales son inmunonegativas para GAB1 y YAP1.

Perfil genético

La sobreexpresión de MYC es una característica cardinal de los meduloblastomas del grupo 3, y la amplificación de MYC (a menudo acompañada de fusión MYC-PVT1) es relativamente común entre los meduloblastomas del grupo 3. Sin embargo, la

amplificación de MYC se encuentra principalmente en la enfermedad infantil, y ocurre en <25% del total del grupo 3 en general. Otros genes recurrentemente mutados o focalmente amplificados incluyen SMARCA4 (alterado en 10,5% de los casos), OTX2 (en 7,7%), CTDNEP1 (en 4,6%), LRP1B (en 4,6%) y KMT2D (en 4%). Dos oncogenes recurrentes en el grupo 3 de los meduloblastomas son los homólogos GF11 y GF11B, que se activan a través de un mecanismo llamado potenciador de secuestro. De lejos, las aberraciones citogenéticas más comunes en el meduloblastoma (que ocurren en el 80% de los tumores del grupo 4) implican alteraciones del número de copias en la delección del cromosoma 17: 17p, ganancia de 17q, o una combinación de éstas en forma de iso dicéntrica 17q. Los genes más frecuentemente mutados o focalmente amplificados en los tumores del grupo 4 son KDM6A (alterado en 13% de los casos), el locus alrededor de SNCAIP (en 10,4%), MYCN (en 6,3%), KMT2C (en 5,3%) y CDK6 4,7%) y ZMYM3 (en 3,7%). Los oncogenes de GFI activados también se han observado en un subconjunto de tumores del grupo 3/4 que no se agrupan confiablemente en uno u otro grupo.

Pronóstico y factores predictivos

La amplificación de MYC se ha establecido desde hace mucho tiempo como una alteración genética asociada con mal resultado en pacientes con meduloblastoma. Esta observación se refleja en el resultado relativamente pobre de los meduloblastomas del grupo 3, pero la amplificación de MYC tiene significación pronóstica incluso entre los tumores del grupo 3. Enfermedad metastásica en el momento de presentación, que se asocia con mal resultado, parece ser el marcador pronóstico más fuerte entre los tumores del grupo 4.

Meduloblastomas, definidos histológicamente

Meduloblastoma, clásico

Definición

Un tumor neuroepitelial embrionario que se origina en el cerebelo o el tronco cerebral dorsal, que consiste en células pequeñas redondas indiferenciadas densamente empaquetadas con pleomorfismo nuclear leve moderado y un alto recuento mitótico.

Los meduloblastomas clásicos carecen de desmoplasia intratumoral significativa, el marcado pleomorfismo nuclear de la variante anaplásica y las características citológicas de la variante de células grandes. Los meduloblastomas clásicos representan el 72% de todos los meduloblastomas. Se presentan en toda la gama de edad del paciente de meduloblastoma, desde la infancia hasta la edad adulta, pero predominantemente en la infancia, y se encuentran en los cuatro grupos moleculares de meduloblastoma.

Código CIE-0 9470/3

Epidemiología

El meduloblastoma clásico es más frecuente que sus variantes en la infancia, pero es menos común que el meduloblastoma desmoplásico / nodular en lactantes y adultos.

Microscopía

Los meduloblastomas clásicos son el tumor arquetípico de células pequeñas redondas azules del SNC. Consisten en una disposición sincitial de células embrionarias indiferenciadas densamente empaquetadas. Figuras mitóticas y cuerpos apoptóticos se encuentran entre las células tumorales. La desmoplasia intratumoral es deficiente, pero la desmoplasia pericelular es inducida donde las células tumorales invaden las leptomeninges. Las rosetas de Homer Wright se encuentran en algunos meduloblastomas clásicos (y de células grandes / anaplásicos). Ocasionalmente, los nódulos de diferenciación neurocítica y la proliferación celular reducida son evidentes en algunas áreas de tumores clásicos, pero nunca se asocian con desmoplasia internodular o colágeno perinodular cuando se examinan en una preparación de reticulina. Además, estos meduloblastomas nodulares no desmoplásicos son tumores no WNT / no SHH, a diferencia de tumores nodulares / desmoplásicos, que pertenecen al grupo activado por SHH.

Inmunofenotipo

Los meduloblastomas clásicos expresan diversos marcadores neurales no específicos, tales como NCAM1, MAP2 y enolasa neuronal específica. La mayoría de los casos son inmunopositivos para la sinaptofisina y NeuN, pero estos marcadores neuronales también pueden estar ausentes. La inmunoreactividad de los PFN es muy rara. Se pueden observar células que muestran expresión de GFAP y una morfología embrionaria en hasta un 10% de los meduloblastomas. Cuando están presentes, estas células son infrecuentes y tienden a estar dispersas a través del tumor, lo cual es diferente del patrón de inmunoreactividad GFAP en tumores astrocíticos de células pequeñas.

La expresión nuclear de SMARCB1 y SMARCA4 se mantiene en todos los tipos de meduloblastoma; La pérdida de expresión de una de estas proteínas complejas SWI / SNF es el diagnóstico de tumor rabdoide / teratoide atípico.

Meduloblastoma desmoplásico / nodular

Definición

Un tumor neural embrionario que se origina en el cerebelo y se caracteriza por zonas nodulares, libres de reticulina y células intermedias densamente comprimidas y poco diferenciadas que producen una red intercelular de fibras de colágeno positivas a la reticulina. El meduloblastoma desmoplásico / nodular se caracteriza por características clínicas, genéticas y biológicas específicas. Ocurre en los hemisferios cerebelosos y en la línea media y tiene una distribución de edad bimodal en los pacientes, con una incidencia relativamente alta en niños pequeños y adolescentes, así como en adultos. En la infancia temprana, se asocia con el síndrome de carcinoma basocelular nevoide (también llamado síndrome de Gorlin).

El meduloblastoma desmoplásico / nodular muestra la activación patológica de la vía SHH, que es causada por mutaciones en los genes que codifican componentes de la vía, tales como PTCH1, SMO y SUFU. Las características genéticas e histológicas del meduloblastoma clásico, como el isocromosoma 17q y las rosetas neuroblásticas, están ausentes. El meduloblastoma desmoplásico / nodular se superpone histológicamente con el MBEN, que contiene grandes regiones irregulares libres de reticulina de diferenciación

neurocítica entre las estrechas cadenas desmoplásicas de células embrionarias proliferantes. El meduloblastoma desmoplásico / nodular se asocia con un resultado más favorable en niños pequeños que las variantes no desmoplásicas de meduloblastoma.

Código CIE-0 9471/3

Calificación

Al igual que todos los meduloblastomas, el meduloblastoma desmoplásico / nodular corresponde histológicamente al grado IV de la OMS.

Epidemiología

Se calcula que los meduloblastomas desmoplásicos / nodulares representan el 20% de todos los meduloblastomas. En niños menores de 3 años, el meduloblastoma desmoplásico / nodular representa el 47-57% de todos los casos. En una cohorte retrospectiva de pacientes adultos, el meduloblastoma desmoplásico / nodular constituyó el 21% de todos los meduloblastomas.

Localización

A diferencia de la mayoría de los meduloblastomas clásicos (no WNT), que están restringidos a la línea media, el meduloblastoma desmoplásico / nodular puede aparecer en los hemisferios cerebelosos y en el vermis. La mayoría de los meduloblastomas que ocurren en los hemisferios cerebelosos son de tipo desmoplásico / nodular.

Imágenes

En la RM, los meduloblastomas desmoplásicos / nodulares se presentan como masas sólidas, frecuentemente que mejoran el contraste. Los tumores que afectan los hemisferios cerebelares periféricos en adultos ocasionalmente se presentan como lesiones extra-axiales.

Progresión

Los tumores pueden recidivar localmente, hacer metástasis a través de las vías del líquido cefalorraquídeo y, en raras ocasiones, propagarse a sitios extra-CNS como el sistema esquelético. Al diagnóstico, la enfermedad metastásica se encuentra menos frecuentemente con meduloblastomas desmoplásicos / nodulares que con otras variantes.

Microscopía

El meduloblastoma desmoplásico / nodular se caracteriza por zonas nodulares, libres de reticulina (llamadas islas pálidas) rodeadas por células densamente empaquetadas, indiferenciadas y altamente proliferativas, con núcleos hipercromáticos y moderadamente pleomórficos, que producen una densa red intercelular de fibras de reticulina. En casos raros, este patrón definitorio no está presente a lo largo de todo el tumor y en su lugar hay una disposición más sincitial de células embrionarias no desmoplásicas presentes en pocas áreas. Los nódulos contienen células tumorales con características de maduración neurocítica variable incrustadas en una matriz fibrilar similar al neuropilo. El nivel de actividad mitótica en los nódulos es menor que en las áreas internodulares. Las rosetas neuroblásticas no se encuentran en el meduloblastoma desmoplásico / nodular. Los tumores con nódulos pequeños se pueden pasar fácilmente

por alto si no se realiza tinción de reticulina. Los meduloblastomas que muestran sólo una mayor cantidad de fibras de reticulina (sin patrón nodular) o que muestran un patrón nodular focal sin desmoplasia no se clasifican como meduloblastoma desmoplásico / nodular; Las dos características deben ocurrir juntas para un diagnóstico de meduloblastoma desmoplásico / nodular.

Inmunofenotipo

Los nódulos en el meduloblastoma desmoplásico / nodular muestran una expresión variable de marcadores neuronales, incluyendo sinaptofisina y NeuN. Los nódulos con expresión de NeuN muy fuerte, que es un indicador de diferenciación neurocítica avanzada, son típicos del meduloblastoma con nodularidad extensa, pero también pueden ocurrir en la variante desmoplásica / nodular. El índice de proliferación Ki-67 es mucho mayor en las áreas internodulares que en los nódulos. La activación de la vía SHH puede inferirse mediante inmunohistoquímica para dianas específicas, tales como GAB1 y TNFRSF16. Estos marcadores se expresan predominantemente en áreas internodulares. GFAP expresión se puede encontrar específicamente en las células tumorales en un subconjunto de casos. La acumulación nuclear generalizada y fuerte de p53, que sugiere una mutación TP53, puede detectarse en raros meduloblastomas desmoplásicos / nodulares, frecuentemente en asociación con signos de anaplasia citológica. Este hallazgo puede acompañar a la alteración somática o de la línea germinal TP53 (síndrome de Li-Fraumeni).

Célula de origen

Los meduloblastomas desmoplásicos / nodulares se derivan de células progenitoras de células granulares que forman la capa celular de gránulos externos durante el desarrollo cerebeloso. Estos progenitores son dependientes de SHH (producido por células de Purkinje) como un mitógeno.

Perfil genético

El meduloblastoma desmoplásico / nodular muestra la activación patológica de la vía SHH, que a menudo es causada por mutaciones en genes que codifican a los miembros de la vía, incluyendo PTCH1, SMO y SUFU. En un análisis reciente utilizando secuenciación de próxima generación, el 85% de los meduloblastomas desmoplásicos / nodulares presentaron alteraciones genéticas en PTCH1, SUFU, SMO, SHH, GL / 2 o MYCN. Este estudio mostró un predominio de SUFU y PTCH1 mutaciones en niños pequeños, mientras que PTCH1 y SMO mutaciones fueron más comunes en los adultos. Se han descrito también mutaciones raras en otros genes (por ejemplo, LDB1). Se han identificado mutaciones DDX3X recurrentes, así como las mutaciones del promotor TERT. Las pérdidas alélicas de las regiones en los cromosomas 9q y 10q se encuentran en algunos meduloblastomas desmoplásicos / nodulares, mientras que el isocromosoma 17q, que es un marcador de meduloblastoma clásico (no WNT) y meduloblastomas de células grandes / anaplásicos, está ausente en el meduloblastoma desmoplásico / nodular.

Predisposición genética

El síndrome de carcinoma basocelular nevoide (también llamado síndrome de Gorlin) es causado principalmente por mutaciones germinales heterocigotas en PTCH1 y rara vez por mutaciones en línea germinal en SUFU o PTCH2. Los meduloblastomas que

ocurren en el contexto del síndrome de carcinoma basocelular nevoide son principalmente variantes desmoplásicas (es decir, meduloblastoma desmoplásico / nodular o meduloblastoma con nodularidad extensa). Se ha demostrado que el riesgo de meduloblastoma en síndrome de carcinoma basocelular nevoide relacionado con PTCH1 es aproximadamente del 2% y que el riesgo es 20 veces el valor en síndrome de carcinoma basocelular nevoide relacionado con SL / FL. En niños con síndrome de carcinoma basocelular nevoide relacionado con SUFD, se recomienda altamente la supervisión de resonancia magnética cerebral. Las mutaciones en la línea germinal de SUFU también se han descrito en pacientes con meduloblastomas desmoplásicos que no cumplen los criterios diagnósticos para el síndrome de carcinoma basocelular a nevoide. Las familias de lactantes con meduloblastomas desmoplásicos deben recibir asesoramiento genético debido a la alta frecuencia de alteraciones en la línea germinal y el síndrome de carcinoma basocelular nevoide.

Pronóstico y factores predictivos

En la mayoría de los casos, el meduloblastoma desmoplásico / nodular en la primera infancia tiene un resultado excelente con cirugía y quimioterapia sola. En un metaanálisis de los factores pronósticos en el meduloblastoma infantil, la supervivencia libre de progresión o la supervivencia general a los 8 años fue significativamente mejor para las variantes desmoplásicas que para otros meduloblastomas. No se encontró diferencia de supervivencia entre el meduloblastoma desmoplásico / nodular y meduloblastoma clásico en un estudio europeo multicéntrico en el que participaron niños mayores con meduloblastoma de riesgo estándar.

Meduloblastoma con nodularidad extensa

Definición

Un tumor embrionario del cerebelo caracterizado por muchos nódulos grandes libres de reticulina de células neurocíticas con una matriz tipo neuropilo y por estrechas líneas internodulares de células tumorales mal diferenciadas en una matriz desmoplásica.

En el meduloblastoma con nodularidad extensa (MBEN), el componente internodular rico en reticulina con células embrionarias es un elemento menor. Esta variante ocurre predominantemente en lactantes y se asocia con un resultado favorable con regímenes de tratamiento actuales.

MBEN está estrechamente relacionado con el meduloblastoma desmoplásico / nodular, con el que se superpone histopatológicamente y genéticamente; Ambas variantes son tumores SHH-activados. MBEN se asocia con el síndrome de carcinoma basocelular nevoide (también llamado síndrome de Gorlin).

Código CIE-O 9471/3

Calificación

Al igual que todos los meduloblastomas, MBEN corresponde histológicamente al grado IV de la OMS.

Epidemiología

En grandes series, los meduloblastomas con nodularidad extensa representan el 3.2- 4.2% de todas las variantes del meduloblastoma en general, pero en los niños menores de 3 años (en los que los meduloblastomas desmoplásicos / nodulares representan el 50% de los casos), el meduloblastoma con nodularidad extensa En el 20% de todos los casos.

Localización

Más del 80% de los meduloblastomas con nodularidad extensa se localizan en el vermis. Esta localización contrasta con la del meduloblastoma desmoplásico / nodular, que más frecuentemente envuelve los hemisferios cerebelosos.

Imágenes

En la resonancia magnética, el meduloblastoma con nodularidad extensa se presenta como una lesión multinodular muy grande con estructuras en forma de uva que realzan el vermis y algunas veces los hemisferios cerebelosos. Los casos raros tienen una peculiar presentación giriforme, en la que los folios cerebelosos están bien delineados y ampliados, con realce de contraste. Se puede observar hernia descendente de las amígdalas cerebelosas y borrado de los espacios cisternales de la fosa posterior.

Progresión

El meduloblastoma con nodularidad extensa puede recaer localmente o (raramente) puede metastatizar vía líquido cefalorraquídeo. Sin embargo, estos casos parecen responder bien al tratamiento posterior y tienen un pronóstico favorable.

Microscopía

El meduloblastoma con nodularidad extensa difiere de la variante desmoplásica / nodular relacionada en que tiene una arquitectura lobular expandida debido al hecho de que las zonas libres de reticulina se vuelven inusualmente alargadas y ricas en tejido tipo neuropilo. Estas zonas contienen una población de células pequeñas con núcleos redondos, que muestran una diferenciación neurocítica y muestran un patrón de flujo. La actividad mitótica es baja o ausente en estas áreas neurocíticas. El componente internodular está notablemente reducido en algunas áreas. Después de la radioterapia y / o quimioterapia, los meduloblastomas con nodularidad extensa ocasionalmente sufren maduración adicional a tumores dominados por células ganglionares.

Inmunofenotipo

Al igual que en los meduloblastomas desmoplásicos / nodulares, el tejido tipo neuropilo y las células neurocíticas diferenciadas dentro de los nódulos son fuertemente inmunorreactivos para la sinaptofisina y NeuN y el índice de proliferación Ki-67 es mucho mayor en las áreas internodulares. La activación de la vía SHH puede demostrarse mediante inmunohistoquímica para dianas específicas tales como GAB1 o TNFRSF16.

Célula de origen

El meduloblastoma con nodularidad extensa, como la mayoría de los meduloblastomas activados por SHH, parece derivar de precursores de neuronas de gránulos cerebelosos positivos a ATOH1.

Perfil genético

El meduloblastoma con nodularidad extensa lleva mutaciones en los genes que codifican a los miembros de la vía SHH. La mayoría de los casos albergan una mutación SUFU. Sin embargo, un estudio reciente de 4 meduloblastomas con nodularidad extensa encontró una mutación PTCH1 en 2 de los tumores y una mutación SUFU y SMO en uno de los otros 2 tumores.

Predisposición genética

En la mayoría de los casos, el síndrome de carcinoma basocelular nevoide es causado por mutaciones en la línea germinal de PTCH1. En algunos casos, las mutaciones en la línea germinal ocurren en SUFU o PTCH2. El síndrome de carcinoma basocelular nevoide se diagnostica en el 5,8% de todos los pacientes con meduloblastoma, pero en el 22,7% de los pacientes con una variante desmoplásica / nodular y el 41% de los pacientes con meduloblastoma con nodularidad extensa. El riesgo de meduloblastoma en PTCH1 relacionados con el síndrome de carcinoma basocelular nevoide es de aproximadamente el 2%, y el riesgo es 20 veces el valor en SUFU relacionados con el síndrome de carcinoma basocelular nevoide. En niños con síndrome de carcinoma basocelular nevoide relacionado con SL / FO, se recomienda la vigilancia de neuroimagen. Las familias con niños que se presentan con MBEN deben recibir asesoramiento genético debido a la alta frecuencia del síndrome de carcinoma basocelular naevoide.

Pronóstico y factores predictivos

El meduloblastoma con nodularidad extensa tiene un resultado excelente en la mayoría de los casos. En un metaanálisis internacional de factores de supervivencia y pronóstico en el meduloblastoma infantil, las tasas de supervivencia libre de progresión y supervivencia global de 21 casos de meduloblastoma con nodularidad extensa a los 8 años fueron de 86% y 95%, respectivamente. La enfermedad metastásica en la presentación no afectó el pronóstico favorable, lo que sugiere que el diagnóstico de meduloblastoma con nodularidad extensa confiere un mejor resultado independientemente de las características clínicas adversas.

Meduloblastoma de células grandes / anaplásico

Definición

Tumor neural embrionario del cerebelo o del tronco cerebral dorsal caracterizado por células indiferenciadas con pleomorfismo nuclear marcado, nucléolos prominentes, involucramiento celular y altos recuentos mitóticos y apoptóticos.

El meduloblastoma de células grandes / anaplásico (LC / A) muestra anaplasia grave o un fenotipo de célula grande en la mayoría del tumor. La «anaplasia grave» combina un marcado pleomorfismo nuclear con abundante actividad mitótica y apoptosis. El fenotipo de células grandes manifiesta núcleos redondos uniformes con nucléolos prominentes. La desmoplasia intratumoral no es una característica de esta variante, pero la desmoplasia puede ser evidente cuando las células tumorales invaden las leptomeninges. Por definición, la morfología clásica, con sólo leve a moderado pleomorfismo nuclear, no puede estar presente en la mayoría del tumor.

Los meduloblastomas anaplásicos y de células grandes se describieron inicialmente como variantes separadas, pero el tumor de células grandes puras es extremadamente raro; La mayoría de los meduloblastomas de células grandes también contienen regiones de anaplasia. Ambas variantes morfológicas están asociadas con un mal resultado con terapias estándar, así como con la amplificación de MYC o MYCN, aunque estas asociaciones no son fuertes y dependen del grupo molecular del tumor. Para fines clínicos, las dos variantes se consideran equivalentes, por lo que ahora se combinan como la variante de células grandes / anaplásicas (LC / A). Esta variante representa aproximadamente el 10% de todos los meduloblastomas y se produce a lo largo de la franja de edad del paciente del meduloblastoma.

Código CIE-0 9474/3

Calificación

Al igual que todos los meduloblastomas, el meduloblastoma LC / A corresponde histológicamente al grado IV de la OMS.

Epidemiología

Los meduloblastomas de células grandes / anaplásicos se encuentran en todos los grupos moleculares de la enfermedad, representando alrededor del 10% de todos los tumores. Pueden ocurrir en pacientes de cualquier edad. Considerados por separado, los meduloblastomas anaplásicos son aproximadamente 10 veces más frecuentes que los meduloblastomas de células grandes. Son más frecuentes entre el grupo 3 y los meduloblastomas activados por SHH; Los tumores LC / A casi nunca ocurren en el grupo activado por WNT.

Microscopía

Anaplasia como una característica de un tumor embrionario se propuso por primera vez para los meduloblastomas con marcado pleomorfismo nuclear acompañado de conteos mitóticos y apoptóticos particularmente altos. Moldeo nuclear y envoltura celular son características adicionales. El meduloblastoma de células grandes carece de la variabilidad en el tamaño y forma de las células que caracteriza a la variante anaplásica; Sus células son grandes y monomórficas con nucléolos prominentes, pero muestra la alta tasa de rotación celular observada en los tumores anaplásicos. Casi todos los meduloblastomas de células grandes contienen regiones con un fenotipo anaplásico; La forma pura es rara.

Perfil genético

Los meduloblastomas de células grandes / anaplásicos se encuentran principalmente entre el grupo 3 o los meduloblastomas activados por SHH. Entre los meduloblastomas del grupo 3, que sobreexpresan MYC, la morfología de células grandes / anaplásicas (en particular el fenotipo de células grandes) se asocia con la amplificación de MYC. Los tumores LC / A activados por SHH están particularmente asociados con la amplificación GLI2 y MYCN, las mutaciones TP53 (que suelen ser líneas germinales) y los patrones específicos de ruptura cromosómica llamados cromotripsis.

Pronóstico y factores predictivos

En el momento en que se describieron los tumores, se sospechó fuertemente que los meduloblastomas de células grandes y anaplásicos se comportan de manera más agresiva que los tumores clásicos, presentándose a menudo con enfermedad metastásica. En estudios retrospectivos de pacientes en cohortes de ensayo, se ha demostrado que la morfología de células grandes / anaplásicas es un indicador pronóstico independiente del resultado; En los ensayos actuales, los tumores LC / A se consideran como tumores de alto riesgo que justifican una terapia adyuvante intensificada. La tasa de supervivencia libre de progresión a los 5 años para los meduloblastomas LC / A es del 30-40%, aunque los tumores LC / A activados con SHH con una mutación TP53 y los tumores del grupo 3 con amplificación MYC pueden comportarse de manera aún más agresiva.

Clasificación de la OMS de Tumores del Sistema Nervioso Central 2016. Tumores Embrionales¹⁰.

Embryonal tumours	
Medulloblastomas, genetically defined	
Medulloblastoma, WNT-activated	9475/3*
Medulloblastoma, SHH-activated and <i>TP53</i> -mutant	9476/3*
Medulloblastoma, SHH-activated and <i>TP53</i> -wildtype	9471/3
Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH <i>Medulloblastoma, group 3</i> <i>Medulloblastoma, group 4</i>	9477/3*
Medulloblastomas, histologically defined	
Medulloblastoma, classic	9470/3
Medulloblastoma, desmoplastic/nodular	9471/3
Medulloblastoma with extensive nodularity	9471/3
Medulloblastoma, large cell / anaplastic	9474/3
Medulloblastoma, NOS	9470/3
Embryonal tumour with multilayered rosettes, C19MC-altered	9478/3*
<i>Embryonal tumour with multilayered rosettes, NOS</i>	9478/3
Medulloepithelioma	9501/3
CNS neuroblastoma	9500/3
CNS ganglioneuroblastoma	9490/3
CNS embryonal tumour, NOS	9473/3
Atypical teratoid/rhabdoid tumour	9508/3
<i>CNS embryonal tumour with rhabdoid features</i>	9508/3

Resumen de los diagnósticos integrados más comunes, con correlación clínica.
OMS CNS 2016 ¹⁰.

Genetic profile	Histology	Prognosis
Medulloblastoma, WNT-activated	Classic	Low-risk tumour; classic morphology found in almost all WNT-activated tumours
	Large cell / anaplastic (very rare)	Tumour of uncertain clinicopathological significance
Medulloblastoma, SHH-activated, TP53-mutant	Classic	Uncommon high-risk tumour
	Large cell / anaplastic Desmoplastic / nodular (very rare)	High-risk tumour; prevalent in children aged 7–17 years Tumour of uncertain clinicopathological significance
Medulloblastoma, SHH-activated, TP53-wildtype	Classic	Standard-risk tumour
	Large cell / anaplastic	Tumour of uncertain clinicopathological significance
	Desmoplastic / nodular Extensive nodularity	Low-risk tumour in infants; prevalent in infants and adults Low-risk tumour of infancy
Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH, group 3	Classic	Standard-risk tumour
	Large cell / anaplastic	High-risk tumour
Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH, group 4	Classic	Standard-risk tumour; classic morphology found in almost all group 4 tumours
	Large cell / anaplastic (rare)	Tumour of uncertain clinicopathological significance

Síndromes de predisposición familiar

La idea inicial de las vías de conducción al meduloblastoma se infirió que fuera de predisposiciones familiares asociadas con meduloblastoma. Los más comunes son el síndrome de Li-Fraumeni con mutaciones en línea germinal de TP53 ¹¹. Estas mutaciones pueden conducir a una variedad de otros tipos de cáncer, pero en meduloblastoma, las mutaciones de TP53 tanto somáticas como de línea germinal están presentes con frecuencia en los pacientes subgrupo SHH en la infancia y es conocido que facilitan reordenamientos catastróficos a gran escala a través de cromotripsis ¹²⁻¹⁴. Las mutaciones somáticas en TP53 pueden ocurrir también en el subgrupo WNT. Menos frecuente es el síndrome de Gorlin, que es una enfermedad autosómica dominante que se caracteriza por mutaciones del receptor transmembrana Patched 1 (PTCH1). La mayoría de estos pacientes adquieren carcinoma de células basales, mientras que alrededor del 5-20% tendrán meduloblastoma ^{15, 16}. Resultados de la delección del locus PTCH1 con mayor actividad de Smoothed (SMO) y regulación positiva de la vía de señalización Sonic Hedgehog (Shh), un marcador del subgrupo SHH. Las predisposiciones menos comunes son las siguientes: (I) Síndrome de Turcot, Poliposis Adenomatosa Coli (APC) mutaciones de línea germinal que se asocian con una multitud de otros tumores del sistema nervioso central y cáncer colorrectal ^{17, 18} y (II) Mutaciones autosómicas dominantes en la proteína CREB vinculante (CREBBP) causando síndrome de Rubinstein-Taybi ¹⁹. Estas predisposiciones familiares no abarcan a todos y sólo representan un subgrupo de pacientes. Hay muchos otros factores genéticos que pueden conducir al desarrollo de un meduloblastoma y serán cubiertos en las siguientes secciones.

Subgrupo WNT

Variables clínicas

De todos los subgrupos, el subgrupo WNT tiene el pronóstico más favorable, con más de 95% pacientes que sobreviven la enfermedad (Tabla 1). Los tumores WNT exhiben histología clásica, rara vez metastatizan y tienen una predisposición incluso de género. El subtipo WNT es el menos frecuente, con una tasa de 10% entre los pacientes con meduloblastoma. La alteración distintiva en tumores de WNT es la activación de mutaciones somáticas en el exón 3 de la β -catenina (CTNNB1). La monosomía 6 es la principal alteración estructural recurrente y por lo general se encuentra en un genoma de otro modo equilibrado²⁰⁻²².

Biología Molecular

La vía de señalización Wnt juega un papel esencial en el desarrollo embrionario, control de especificación de destino celular, proliferación celular, migración celular y patrón eje del cuerpo. En el cerebro en desarrollo, la vía Wnt tiene amplios efectos reguladores sobre la maduración neuronal y formación de sinapsis. Esta vía se activa a través de la unión de ligandos Wnt a los receptores Frizzled, que transmiten señales en el núcleo a través de liberación de CTNNB1 (Fig. 1 a la izquierda). Importantes reguladores negativos de esta vía son APC y SUFU que normalmente previenen la acumulación de CTNNB1 en el núcleo^{23, 24}. Casi todos (90%) los pacientes WNT tienen mutaciones de sentido erróneo somáticas en CTNNB1 que promueve la estabilización de proteínas. La siguiente mutación más común esta en DDX3X, con mutaciones agrupadas en sus dos dominios hipotéticos helicasa que alteran su capacidad de unión al ARN en lugar de abolirlo. Estudios funcionales in vivo e in vitro de DDX3X sugieren que mejora y / o mantiene la proliferación celular de células progenitoras Wnt. También es posible que estas mutaciones ayuden a mejorar la transformación mediante la activación de la β -catenina²⁵⁻²⁷. También se encuentran comúnmente mutaciones sin sentido en TP53 en el subgrupo WNT. A pesar de ser un marcador de alto riesgo en el subgrupo SHH y otros tipos de cáncer, las mutaciones de TP53 no confieren ninguna diferencia en la supervivencia de los pacientes diagnosticados con meduloblastomas subgrupo WNT¹⁴.

Modelos

Los progenitores del labio inferior rómico son probablemente la célula de origen de los tumores WNT. Estabilización y localización nuclear de CTNNB1 son los rasgos más característicos del subgrupo WNT, y en modelos de ratón, su acción no es suficiente para transformar las células granulares externas, que son las células de origen de subgrupo SHH. Además, los tumores WNT en seres humanos se encuentran adyacentes al tronco cerebral a diferencia de los del subgrupo SHH que surgen desde el interior del cerebelo. Durante el desarrollo, post mitótico los precursores de mossy-fibre de neuronas en el tronco cerebral dorsal migran hacia el tronco cerebral central. La expresión dirigida de la beta-catenina activada en ratones con precursores post mitótico de mossy-fibre de neuronas que utilizan una proteína promotora de unión a lípidos del cerebro (BLBP), junto con un no-caut de TP53, que conduce a la formación de un tumor WNT con alta latencia y baja penetrancia²⁸. El trabajo posterior estableció que a través de la adición de un fosfoinosítide 3-quinasa (PI3K) polipéptido catalítico- α alelo mutante (Pik3caE545K) identificado en meduloblastomas Wnt, la penetrancia en el modelo de ratón se aumentó a 100% con formación de tumores WNT altamente representativos en 3 meses²⁶⁻²⁹.

Subgrupo SHH

Variables clínicas

El subgrupo SHH representa un tercio de todos los pacientes con meduloblastoma y tiene un pronóstico intermedio con una supervivencia a los 5 años que oscila entre el 60 y el 80%. La distribución por edades es bimodal siendo subgrupo SHH la mayoría de meduloblastomas infantiles y de adultos. La clasificación histológica puede ser de cualquiera de las 5 variantes descritas por el sistema de clasificación de la OMS; Sin embargo, un modelo que ha demostrado gran utilidad en la detección de nuevos genes conductores y eventos que cooperan ha sido, la variante desmoplásica que es más común en niños y adultos. Las células grandes y / o con histología anaplásica es común en niños que albergan mutaciones de línea germinal o somática del gen TP53. Pacientes con tumores del subgrupo SHH comúnmente tienen amplificaciones focales de GLI2, y MYCN, así como pérdida de 17p (Tabla 1) ^{3, 21, 30, 31}.

Biología Molecular

Durante el desarrollo del cerebelo temprano, las células de Purkinje liberan glicoproteínas SHH y estimulan la proliferación y la migración posterior de las células a la capa interna de células granulares. La activación excesiva de la vía de saturación SHH con expresión de factores de transcripción diana GLI2 que inducen la proliferación descontrolada de células granulares y formación de un tumor. Las alteraciones en este subgrupo más a menudo caen dentro de la vía de señalización de SHH y menos frecuentemente en las vías PI3K y mTOR cooperadoras (Fig. 1 a la derecha) ^{24, 32}. Las alteraciones más comunes son somáticas o germinales inactivadoras o pérdida de PTCH1 y SUFU, o mutaciones de sentido erróneo somáticas que activan SMO ^{22, 25, 26, 27}. Un subgrupo de pacientes de alto riesgo se presentó con co-amplificación de MYCN y GLI2 acompañada de inactivación de TP53. Dentro del subgrupo SHH, también hay una diferencia en factores de riesgo y de biología molecular para los diferentes grupos de edad. Las mutaciones SuFu se encuentran predominantemente en recién nacidos, mientras que amplificaciones de GLI2 de alto riesgo se encuentran en niños mayores y adolescentes ^{13, 33}. En los adultos, las mutaciones más comunes son somáticas en SMO y C228T o C250T del promotor TERT, que crean un motivo de unión E-veinte-seis ^{39, 40}.

Modelos

Hay una gran variedad de modelos de ratón que recapitulan al subgrupo SHH, y estas funciones principalmente a través de la desregulación de la vía de señalización hedgehog. En el primer modelo de meduloblastoma de ratón se utilizó un solo alelo del gen knockout de PTCH1, con un inhibidor negativo de la vía SMO que impulso la génesis tumoral en células granulares ³⁶. Desde entonces, ha habido otros modelos que cruzan Ptc1 +/- con otras aberraciones que confieren un fenotipo más agresivo, tales como deleciones de quinasas dependientes de ciclina Ink4c y Kip1 ^{37, 38}, o al regulador maestro TP53 ³⁹. NeuroD2 dependiente de sobreexpresión de SMO mutante en células granulares también es capaz de conducir tumores muy infiltrantes con metástasis leptomeníngea ^{40, 41}. Además, a pesar de que se cree que los meduloblastomas SHH surgen tradicionalmente en modelos de células granulares, se han producido en ratones que demuestran que la señalización de SHH en núcleos aberrantes cocleares y células madre neurales son capaces de formar un tumor ^{42, 43}.

En el modelo de ratón bello durmiente Sleeping Beauty (SB) ⁴⁴ utiliza la integración del transposón al azar para impulsar la génesis tumoral. Los transposones contienen elementos que son capaces de sobre expresar o truncar genes en función de la ubicación de la inserción y la orientación. Los eventos de inserción que están mediados por una transposasa, que se limitan a un gránulo de precursores de células mediante el uso del promotor MATH1 que conduce la expresión de la transposasa. Casi todos los ratones desarrollan tumores con una alta tasa de metástasis leptomeníngeo por 3 meses. El modelo SB ha identificado un gran número de conductores de tumores primarios tales como MyoD ⁴⁵ y Nfia ⁴⁶ y también ha puesto de manifiesto el alto grado de divergencia entre los tumores primarios y metastásicos.

Grupo 3

Variables clínicas

Los meduloblastomas del Grupo 3 comprenden aproximadamente 20% de todos los meduloblastomas (Tabla 1). Estos pacientes tienen la peor supervivencia y la tasa más alta de diseminación metastásica. Los pacientes del grupo 3 recurren casi exclusivamente con diseminación metastásica con un lecho tumoral limpio ⁴⁷. Los pacientes con diagnóstico de este subgrupo son comúnmente son bebés y niños pequeños con una discordancia hombre: mujer de 2: 1. La histología de este tumor es comúnmente clásica o de células grandes anaplásica (LCA), y el genoma de estos tumores es muy desequilibrado con un gran número de alteraciones grandes tales como ganancia del cromosoma 7 e isocromosoma 17q; muchas de estas alteraciones también son compartidas con el Grupo 4.

Biología Molecular

Hay varias alteraciones somáticas recurrentes en el número de copias en el Grupo 3, pero inusualmente algunas variantes de nucleótido único recurrentes e indeles. En el Grupo 3 el transcriptoma está dominado por foto receptores y firmas de expresión GABAérgicas ⁴⁸. El acontecimiento más común es la amplificación de MYC en el 10-20% de los pacientes, que en muchos casos se produce con una fusión entre el promotor de PVT1 y el segundo exón de MYC ²². En muchos tipos de cáncer, el locus MYC a menudo es co-amplificado con el ARN no codificador PVT1, que es capaz de estabilizar la proteína MYC ⁴⁹. En el meduloblastoma, es probable que estas fusiones creen un circuito de retroalimentación positiva desde el promotor PVT1 que contiene E-box canónicas que son activadas por la proteína MYC ⁵⁰. La amplificación del factor de transcripción OTX2 es otra alteración común del número de copias que ocurre en 10% de los pacientes, y que son mutuamente excluyentes de la amplificación MYC. Se sabe que OTX2 juega un papel importante en el control de destino celular y la diferenciación de diversas células progenitoras en el cerebro en desarrollo y es capaz de reprimir la diferenciación miogénica de células de meduloblastoma. También juega un papel en la vía de señalización de TGF-B que contiene otras numerosas alteraciones del número de copias menos recurrentes que indican que la desregulación de esta vía puede ser un evento controlador ⁵¹⁻⁵³.

Modelos

Dos modelos de trasplante orto tópico del Grupo 3 han sido creadas para acoplar la sobreexpresión de MYC con la inactivación de TP53 ^{54, 55}. La expresión MYC conduce a una mayor tasa de proliferación, así como una mayor tasa de apoptosis mediada por TP53 por lo que requiere la necesidad de inactivar el locus TP53. El primer modelo, de Pei et al, con células madre neural aisladas de linaje CD133 con marcadores negativos y

positivos de glía de cerebelo posnatal se infectaron con MYC y dominaron las TP53 negativo (DNp53) ⁵⁶. Se mostró que estas células no responden a la estimulación de Shh y son capaces de diferenciarse en neuronas, astrocitos y oligodendrocitos. La infección de estas células con un MYC estabilizado (MycT58A) seguidas de trasplante en un ratón condujeron a la formación de un número de lesiones hiperplásicas transitorias con altas tasa de apoptosis. Mediante la introducción de DNp53, se abolieron los efectos apoptóticos, y se formaron tumores con histología LCA, necrosis prominente y amoldamiento nuclear. El segundo modelo se produjo mediante el aislamiento de células granulares progenitoras a partir de ratones Atoh1-GFP que expresan GFP en células progenitoras de la capa de la granular externa, de ratones postnatales TP53 - / -. Las células enriquecidas con Atoh1-GFP transducidas con MYC fueron capaces de formar tumores agresivos con histología de LCA incluso después de múltiples pases en ratones. En el Grupo 3, los eventos focales en TP53 son extremadamente raros, pero no es frecuente la pérdida de 17p (donde reside TP53). La resistencia a la vía de inhibición SHH y la similitud en la firma de genes del Grupo 3 sugieren que estos dos modelos son representativos de enfermedad humana.

Grupo 4

Variables clínicas

El Grupo 4 es el más común de todos los sub-grupos de meduloblastoma y tiene una supervivencia global intermedia de 75% (Tabla 1). La histología es más comúnmente clásica. Tiene una alta tasa de metástasis y una relación de discordancia 2: 1 hombre: mujer. El genoma del Grupo 4 es comúnmente tetraploide, y la alteración estructural más común es el isocromosoma 17q, que se encuentra en 80% de los pacientes.

Biología Molecular

El Grupo 4 tiene firma neuronal y expresión glutaminérgica y, al igual que el Grupo 3, algunas variantes de nucleótido único recurrentes e indeles. El gen somático mutado con mayor frecuencia en el Grupo 4 de meduloblastoma es KDM6A, H3 Lys27 (H3K27) histona desmetilasa; las mutaciones sin sentido se encuentran en 13% de los pacientes ⁵⁷⁻⁵⁹. KDM6A pertenece a la familia de histonas Jumonji C desmetilasas, junto con KDM6B, que también se encuentra mutado en el meduloblastoma. El proto oncogén MYCN y CDK6 quinasa dependiente de ciclina se amplifican de forma recurrente en el Grupo 4. Lo más comunes son amplificaciones/tándem focales duplicaciones de la proteína de interacción de la alfa-sinucleína (SNCAIP) en el cromosoma 5q23, que codifica una proteína previamente implicada en la enfermedad de Parkinson ⁶⁰. Todavía no se sabe si SNCAIP es el controlador para estos pacientes, se necesita más investigación para descubrir su papel específico en los meduloblastomas de Grupo 4.

Modelos

Debido al bajo número de eventos focales y muchos reordenamientos amplios, la búsqueda de un modelo del Grupo 4 ha sido difícil de lograr. MYCN está regulado comúnmente de forma positiva en el meduloblastoma y es el sitio de una de las amplificaciones focales más recurrentes en el Grupo 4. Swartling et al crearon un modelo de ratón de meduloblastoma impulsado MYCN por la orientación de su expresión con GLT1, un promotor específico del cerebro altamente expresado en el cerebelo en todo el desarrollo hasta la edad adulta. Los tumores tenían una baja latencia y tasa de metástasis y un tipo histológico clásico o LCA. Se requiere MYCN tanto para iniciar y mantener el tumor, pero probablemente está cooperando con otros eventos ya que el genoma se encontró desequilibrado y tenía un número de alteraciones del número de copias

recurrentes. Este modelo está mostrando una gran promesa como un modelo del Grupo 4, pero estudios adicionales necesitan ser realizados con el fin de caracterizar las firmas de expresión e identificar la célula de origen ²⁹.

Epigenética

Ha habido un número recurrente de un nucleótido somático solo y un número de copias variantes dentro de modificadores de la cromatina identificados a través de todos los subgrupos. Las más comunes son mutaciones truncadas del linaje mielóide / linfóide o mixto de la proteína de leucemia 2 (MLL2) y MLL3 que sugieren un papel como conductor oncogénico universal. En el Grupo 3 y 4, hay una gran variedad de mutaciones somáticas recurrentes en SMARCA4 (exclusivo al grupo 3), y KDM6A (exclusivo del grupo 4), y menos comúnmente en CHD7, arid1b, KDM4C y ZMYM3 ^{22, 25, 26, 27}. También hay sobreexpresión de EZH2, una metiltransferasa H3K27 que es parte del complejo represivo esencial poli combo para la regulación del desarrollo y la diferenciación. Estos eventos son en gran parte mutuamente excluyentes de las otras y las amplificaciones de MYC y MYCN. El mecanismo de su patogénia sigue siendo un tema de investigación intenso, pero es posible que estos eventos conservan los grupos de tumores 3 y 4 en un estado de células madre-like por el mantenimiento de altos niveles de la marca H3K27me3 represiva (EZH2 sobreexpresión o inactivación KDM6A) y / o la interrupción de la transcripción H3K4me3 asociado (ZMYM3 y CHD7 inactivación) ^{52, 61, 62}.

Interacciones potenciador-promotor desempeñan un papel esencial en la regulación específica de genes y el desarrollo de tejido ⁶³. La localización tridimensional de potenciadores activos decide en última instancia que los genes puedan ser activados por el potenciador, y cualquier interrupción pueden conducir a la regulación aberrante de genes. En el Grupo 3 y Grupo 4 del meduloblastoma, recientemente se ha demostrado que los reordenamientos estructurales son capaces de alterar los objetivos previstos de potenciadores para conducir la génesis tumoral en el meduloblastoma ⁶⁴. En particular, una serie de eventos de delección, duplicación y translocación sin relación aparentemente fueron capaces de activar la expresión de los factores de transcripción GF11 o GF11B a través de la reposición de potenciadores distales. Estos eventos somáticos fueron altamente recurrentes, y constituyen un tercio del Grupo 3 y 10% de tumores grupo 4. Cuando estos genes se co-expresan con MYC en células madre neurales murinos, también son capaces de conducir la formación de un tumor agresivo en ratones receptores con una alta tasa de metástasis.

La mayor expresión de análisis de microARN de los cánceres humanos han llegado a las conclusiones comunes de que los miRNAs están desregulados en el cáncer, y el perfil de expresión de los genes miARN representa mejor biología tumoral que el perfil de expresión de genes que codifican proteínas ^{65, 66}. Con el fin de obtener una mejor comprensión de la biología del meduloblastoma, perfiles de miARN de los meduloblastomas se lleva a cabo utilizando una matriz de baja densidad TaqMan v 1.0 que tiene 365 microARN humanos. De forma paralela, en todos los perfiles se realizó expresión del genoma de genes codificadores de proteínas utilizando genes Affymetrix 1,0 ST arrays. Todos los estudios de perfiles se obtuvieron de tejidos tumorales de meduloblastoma en subtipos moleculares casi idénticos.

El Grupo de Trabajo Internacional en meduloblastoma, en 2014, propuso un algoritmo para la clasificación molecular de los MBs en cuatro subgrupos, que se basa principalmente en secuenciación, perfil de expresión de genes y perfiles de metilación ⁹. Sin embargo, estas técnicas son laboriosas, caras y no siempre dan resultados confiables y reproducibles en el tejido fijado en formol y embebido en parafina (FFEP), haciéndolos

difíciles de incorporar en la evaluación patológica de rutina de los MBs, especialmente en países en desarrollo. Partiendo de esta premisa, en algunos estudios recientes se ha intentado clasificar a los MBs en tres subgrupos moleculares utilizando técnicas de patología pediátrica, así como inmunohistoquímica (IHC) e hibridación in situ con fluorescencia (FISH), que proporcionan resultados rápidos y reproducibles sobre todo en tejido FFEP ⁶⁷. Estos métodos son económicos, robustos y están disponibles en la mayoría de los laboratorios de patología de diagnóstico en todo el mundo. Otros han tratado de desarrollar técnicas que son rápidas y aplicables en tejidos FFEP, tales como ensayo basado en Nanostring desarrollado por Northcott et al, y el panel limitado basado en miRNA, ensayos de PCR en tiempo real reportados por Kunder et al, pero estos son de nuevo caros, así como tardados, y por tanto, no es factible hacer estas prácticas de rutina para clasificar los MBs ^{68, 69}. Con este trasfondo, se intentó definir el mejor protocolo para el subgrupo de MB, que fuera rápido, económico, viable en el tejido FFEP y, que dé resultados grandes similares a los de las técnicas de alto rendimiento, y por lo tanto que fuera aplicable a la mayoría de los laboratorios de todo el mundo. Para esto, se estudió la expresión de marcadores de IHC propuestos por Taylor et al y Ellison et al, y algunos mRNAs y miRNAs subgrupo específicos seleccionados de los analizados por Kunder et al ^{20, 48, 68}.

Una serie de alteraciones moleculares han sido documentadas como marcadores de pronóstico específicos de los diferentes subgrupos. De éstos, la amplificación MYC es un marcador universalmente aceptado de mala evolución, y se enriquece sobre todo en el grupo 3 de los MBs ^{48, 70, 71}. Del mismo modo, el isocromosoma 17q es un marcador de mal pronóstico, pero sólo en el grupo 3 y no en el grupo 4 de los MBs ⁷². Las mutaciones de TP53, por otro lado, se enriquecen en tumores WNT y SHH, pero su valor pronóstico se limita al subgrupo SHH de los MBs ¹⁴. Los MBs SHH también se han estratificado en grupos estándar de bajo y de alto riesgo basados en la amplificación de GLI2, pérdida de 14q e infiltración leptomeníngea ⁷⁶. Además, nuevos marcadores pronósticos han pasado a primer plano, como el H3K27me3 modificadores de histonas y el H3K4me3, donde los patrones de tinción están asociados con diferencias en la supervivencia de los grupos 3 y 4, pero no en los subgrupos WNT o SHH de los MBs ⁶¹. Por lo tanto, también se analizaron de forma selectiva algunos de estos con FISH y marcadores de IHC informando que tienen importancia pronóstica en el MB, para evaluar si su adición al protocolo del subgrupo podría mejorar aún más la estratificación del riesgo de los pacientes MB.

Valor dudoso de la extensión en la resección como un marcador de alto riesgo

La extensión de la resección está actualmente identificada como un marcador de alto riesgo. En concreto, la mayoría de los protocolos para identificar tumor residual de 1,5 cm² como de alto riesgo que justifica la intensificación de radiación craneoespinal a 36 Gy. Sin embargo, esto se basa principalmente en el ensayo CCG-921, que se realizó en la era pre-RM, y se basa en el límite de detección por tomografía computarizada ⁷³. Por otra parte, la cuestión de las resecciones casi totales (0-1,5 cm²) no ha sido revisado durante los últimos 25 años. El trabajo del Hospital para Niños Enfermos en Toronto donde estudiaron a 787 meduloblastomas clínicamente abordados y agrupados sub molecularmente demostraron que la resección casi total no representa ningún riesgo adicional para la supervivencia de la resección total, y que el beneficio pronóstico de una

resección subtotal se atenúa después de considerar la afiliación del subgrupo molecular⁸. El estudio PNET4 de meduloblastomas no metastásicos ha identificado enfermedad residual > 1,5 cm² en la RM postoperatoria como un marcador de mal pronóstico⁷⁴. Sin embargo, PNET4 incluyó sólo una pequeña población de pacientes con resección incompleta (≥ 1.5 cm², n = 31 338), el subgrupo de pacientes con resección subtotal no ha sido informado y los resultados con 23,4 Gy no fueron peores que los reportados con 36 Gy⁷⁵. Estas limitaciones actualmente se oponen a una interpretación adicional de la amplitud de los datos de resección derivados de PNET4 en un contexto de subgrupo-dependiente.

Por otra parte, existe una escasez de pruebas que apoyen que la intensificación de la terapia al eje craneoespinal mejore el control local en el entorno de resecciones subtotales. De hecho, la resección agresiva de los restos tumorales finales puede causar una considerable morbilidad neurológica cuando se adhieren a estructuras cruciales del tronco cerebral⁷⁶. Como tal, el consenso del grupo fue que una resección casi total debe ser considerada como aceptable y equivalente a una resección total con fines de estadificación. El grupo aboga por que la resección quirúrgica segura máxima y debe intentarse siempre; Sin embargo, se debe aconsejar a los neurocirujanos sopesar los riesgos de resecciones agresivas especialmente teniendo en cuenta la equivalencia de pronóstico aceptada de la resección casi total de la resección total. El uso de > 1,5 cm² residuales como un marcador de alto riesgo para intensificar la radiación craneoespinal del meduloblastoma requiere claramente ser cuestionada y debidamente re-evaluado en ensayos clínicos futuros.

Inclusión de medidas de supervivencia funcional y calidad de resultados.

Varios estudios han demostrado que la cognición a largo plazo y la calidad de los resultados de supervivencia para los sobrevivientes de meduloblastoma son con frecuencia deprimidas^{77, 78}. Varios ensayos clínicos prospectivos en los últimos 20 años, incluyendo el reciente del COG de alto riesgo / POG estudio 9031, 9961 y 99701 y no incluyen medidas funcionales y de calidad de vida. Se alcanzó un consenso que subraya la importancia de la evidencia funcional y calidad de los estudios de medidas de supervivencia, y principios sugiere que la calidad de los resultados de supervivencia puede estar relacionado con las características clínico-biológica del tumor⁷⁹⁻⁸¹.

En la actualidad, no existe un consenso en cuanto a las medidas estandarizadas de calidad funcional y de resultados de supervivencia, y la mayoría de los estudios incluyen evaluaciones sub óptimas e inconsistentes. Un grupo de especial preocupación son los niños más pequeños que actualmente se consideran de alto riesgo y que son tratados con 36-39 Gy de radiación craneoespinal. Como tal las medidas, prospectivas que evalúan la calidad de vida, la función cognitiva y otros aspectos de toxicidad deben ser incluidas en todos los ensayos clínicos. La armonización internacional de estas medidas debe llevarse a cabo con urgencia y moverse hacia adelante para una adecuada evaluación tanto de la calidad de vida como de la función cognitiva.

Meduloblastoma recurrente

Varios estudios han demostrado tanto en el meduloblastoma como en otros cánceres infantiles que se producen cambios genéticos significativos en el tumor de la recurrencia. Aunque el subgrupo se mantiene estable en la recurrencia, existe un alto grado de selección clonal, mediante la cual el clon dominante en la recurrencia es rara vez el clon dominante visto en el diagnóstico, y probablemente refleja la selección de clones resistentes de tratamiento ^{47, 82, 83}. Por otra parte, se ha demostrado previamente en pacientes con meduloblastoma que radian del Grupo 3 y 4 que se repiten con más frecuencia con diseminación metastásica, sin crecimiento en el lecho del tumor ⁴⁷. Esto sugiere que las futuras terapias dirigidas a la recurrencia en base a la identificación de objetivos del tumor al momento del diagnóstico pueden fallar debido a la ausencia de la diana de la recurrencia o la ausencia de la diana en el compartimento metastásico ⁴⁴. Además, los gliomas de alto grado inducidos por la radiación pueden ser falsamente diagnosticados como recurrencia tardía de meduloblastoma ^{47, 84}. Como tal, el consenso del grupo es que los tumores recurrentes deben ser re-biopsiados antes de usar la terapia dirigida, si pasan más de 2 años del diagnóstico inicial para confirmar la presencia de la diana, no incluyen gliomas de alto grado inducidos por radiación, o si el diagnóstico es dudoso.

Identificación de síndromes familiares

Varios estudios han demostrado que los tumores SHH ocurren con frecuencia en pacientes que albergan síndromes familiares, en particular mutaciones de línea germinal en PTCH1 (síndrome / Gorlin SCCBN), TP53 (síndrome de Li-Fraumeni) y SUFU ^{14, 85, 86, 87}. Estos pacientes requieren de un screening para cáncer secundario, y consejo genético para la familia ⁸⁸. Estos síndromes tienen implicaciones potenciales de tratamiento, particularmente en los pacientes con mutaciones de la línea germinal PTCH1 que tienen un desarrollo casi universal de carcinoma de células basales si son radiados. Las mutaciones de TP53 son con frecuencia de línea germinal en la población infantil / adolescente ¹⁴. Los pacientes con síndrome de Li-Fraumeni tienen muy mal pronóstico debido a tumores primarios especialmente agresivos y de alto riesgo de cáncer secundario en los supervivientes. Como tal, abogamos por que todos los pacientes pediátricos con diagnóstico de tumores SHH se ofrezcan asesoramiento genético con el fin de tener muestras de tumores germinales y sean secuenciados para TP53, PTCH1, SUFU en tiempo real y que estas mutaciones sean de notificación obligatoria.

Estratificación del riesgo a futuro

Actualmente en América del Norte y Australia, la estratificación de riesgo clínico divide a los pacientes mayores de tres años en riesgo medio / estándar y de alto riesgo. El alto riesgo se define en aquellos pacientes con enfermedad residual [ya sea metastásica, LCR positivo (H +) o enfermedad local residual por encima de 1,5 cm² (R +)]. En Europa, además de los pacientes con M + o enfermedad R +, los pacientes con células grandes y / o patología anaplásica y / o amplificación MYC o gen MYCN se excluyen de los ensayos en promedio de riesgo (por ejemplo, el estudio actual de PNET5), basados en estudios clínicos, histopatológicos y biológicos de ensayos anteriores (por ejemplo, PNET3) ⁷⁰. La cuestión de enfermedad residual se trata más arriba. Sin embargo, en varios estudios realizados en los últimos 5 años se han identificado marcadores moleculares, que pueden

proporcionar capas adicionales de información para permitir una estadificación más amplia del riesgo junto con los criterios utilizados anteriormente ^{72, 75, 89, 90, 91}. Varios estudios publicados y no publicados fueron revisados y se llegó a un consenso en relación con un nuevo esquema de clasificación de riesgo propuesto (Fig. 1).

Bajo riesgo (> 90% de supervivencia)

Varios estudios a nivel mundial, tanto prospectivos y retrospectivos han demostrado que los pacientes no metastásicos WNT menores de 16 años tienen una excelente supervivencia independiente del protocolo con el que han sido tratados. De hecho, el estudio prospectivo PNET3, PNET4 y los estudios retrospectivos SJMB96 y datos del consorcio MAGIC, en Heidelberg, Boston, Mumbai y Toronto han demostrado que los pacientes no metastásicos WNT tratados con cirugía, radiación ± quimioterapia tienen excelentes tasas de supervivencia ^{3, 6, 20, 25, 75, 78, 89, 90}. Dentro del estudio PNET4 completado, en análisis retrospectivo de meduloblastoma, pacientes WNT, pacientes mayores de 16 años no fueron del grupo de bajo riesgo, y fueron excluidos de PNET5 ^{5, 45}. SJMB12 en curso y los ensayos clínicos están evaluando actualmente PNET5 la terapia para pacientes de riesgo de-escalada para riesgo estándar/promedio en pacientes WNT. Pacientes con resecciones incompletas son propensos a ser de bajo riesgo. ⁹³

La baja incidencia de diseminación metastásica de patología de células grandes y / o anaplásica en pacientes WNT se opone a cualquier recomendación clara, y como tal, su estratificación del riesgo sigue siendo indeterminado.

Un subconjunto de grupo de riesgo promedio 4, específicamente aquellos pacientes con pérdida del cromosoma 11 y / o aumento de todo el cromosoma 17 que albergan también pueden ser considerados de bajo riesgo. Un estudio retrospectivo de pronóstico citogenético del consorcio MAGIC mostró que aproximadamente un tercio de pacientes del grupo 4 tuvo pérdida del cromosoma 11 y el 5% ganancia total del cromosoma 17, pero con excelente supervivencia ⁷². Se informó por el grupo de St. Jude que los datos preliminares para luego ser presentados en su publicación y parecen apoyar una supervivencia >90% en los pacientes del Grupo 4 no metastásicos con pérdida total del cromosoma 11. Aunque los pacientes con diseminación metastásica y pérdida del cromosoma 11 o ganancia entera del cromosoma 17 también les va bien, todos ellos fueron, sin duda, tratados como pacientes de alto riesgo con radiación de 36 Gy craneoespinal. Como tal, se acordó que el único grupo 4 no metastásico de pacientes con pérdida del cromosoma 11 podrían ser considerados de bajo riesgo en base a los datos disponibles en la actualidad. Esta observación garantiza la validación de urgencia en cohortes prospectivas para ayudar a guiar futuros ensayos clínicos.

Riesgo estándar (75-90% de supervivencia)

Los ensayos clínicos de varios grupos cooperativos de SIOP, COG y San Judas han demostrado que los resultados del riesgo estándar/promedio del meduloblastoma exceden el 80% de supervivencia a 5 años ^{74, 94, 95}. La mayoría de los pacientes no metastásicos SHH entran en esta categoría con la notable excepción de los pacientes mutados SHH-TP53 que tienen un pronóstico pobre uniforme independiente de la diseminación metastásica ^{14, 31}.

Pacientes del Grupo 3 fueron previamente identificados como un grupo de mal pronóstico en general, aunque los estudios retrospectivos iniciales revelaron subconjuntos transcriptoma definidos de Grupo 3 pacientes que tienen un mejor resultado ^{4, 72}. Los datos no publicados presentados desde la cohorte HIT2000, St Jude y una cohorte institucional del Hospital para Niños Enfermos sugieren que los pacientes Grupo 3 no metastásicos, que recibieron radiación cráneo-espinal, no necesariamente tienen un pronóstico inferior en comparación con otros pacientes de riesgo estándar ^{31, 89}. La amplificación de MYC se ha informado como un marcador de mal pronóstico aunque la relevancia de la amplificación de MYC en el Grupo no metastásico 3 es indeterminado.

El Grupo 4 de meduloblastomas comprende más del 40% de los meduloblastomas de niños no infantes. Los datos no publicados presentados a partir de los estudios de cohorte HIT, St Jude, en investigación del Reino Unido y el consorcio MAGIC publicado y por el Hospital de Toronto para Niños Enfermos una cohorte institucional sugiere que el Grupo no metastásico 4 (sin pérdida de cromosoma 11) puede ser considerado como de riesgo estándar ⁷². La amplificación de MYCN está restringida principalmente a grupos de pacientes SHH y grupo 4, pero se ha demostrado en dos estudios ser un marcador de mal pronóstico sólo en SHH (frecuentemente co-ocurren con mutaciones TP53) ^{4, 72, 86, 96}. Como tal, fue el consenso del grupo a través de los pacientes no metastásicos actualmente clasificados como de riesgo medio; TP53 no mutado y SHH no-MYCN amplificado, Grupo 3 no MYC amplificado y Grupo 4, sin pérdida del cromosoma 11 se deben considerar como de riesgo promedio / estándar.

Alto riesgo (50-75% de supervivencia)

La mayoría de las cohortes biológicamente informadas incluyendo el consorcio MAGIC, cohorte de investigación del Reino Unido, estudios St Jude, y HIT2000, la diseminación metastásica sigue siendo un marcador de mal pronóstico. Los pacientes con meduloblastomas SHH MYCN amplificado entran en esta categoría, independientemente de la diseminación metastásica ^{72, 86, 96}. Los protocolos de alto riesgo resultan en tasas de supervivencia entre 50 y 65% y la gran mayoría de estos pacientes son pacientes no WNT, además, se ha demostrado en estudios previos que el tratamiento de los pacientes metastásicos con dosis reducidas de radiación cráneo-espinal da como resultado una supervivencia significativamente más pobre ⁹⁵. Como tal, pacientes SHH de tipo salvaje TP53 no lactante metastásico y Grupo 4 metastásico deben seguir siendo considerados pacientes de alto riesgo. Los pacientes SHH MYCN amplificado no metastásico también deben ser incluidos en este grupo.

Muy alto riesgo (<50% de supervivencia)

Dos grupos han sido identificados a través de varios estudios para ser de muy alto riesgo, en particular la mutación TP53 mutado en SHH y MYC-amplificado en el Grupo 3 metastásico ^{3, 14, 72}.

Los pacientes con meduloblastomas SHH mutados-TP53, que casi siempre se caracterizan por morfología anaplásica, son de particular interés y merecen la controversia significativa, ya que albergan un número significativo de mutaciones de TP53 en línea germinal como parte del síndrome de Li-Fraumeni en el grupo de edad de la infancia ^{14, 86, 97}. La mutación de línea germinal TP53 en pacientes SHH casi siempre falla

la terapia. Sin embargo, en la puesta en común de los datos de ambos centros europeos y norteamericanos, a pesar de los desenlaces fatales universales con independencia del tratamiento, hubo un pequeño subconjunto de supervivientes a largo plazo que finalmente murieron de tumor secundario. Como tal, el consenso del grupo fue que todos los tumores SHH deben ser examinados en busca de mutaciones somáticas y de la línea germinal TP53 después del asesoramiento genético adecuado. En la actualidad, los datos sobre la frecuencia y la evolución de los tumores SHH con mutación somática TP53 incompleta.

Aquellos pacientes que tienen mutaciones en la línea germinal TP53 deben ser priorizados para nuevas terapias, en el contexto de ensayos clínicos rigurosos en la mayoría de sitios / grupos internacionales de ensayos. Una opción potencial, sugerida basada en la evidencia de que los pacientes con mutaciones de línea germinal TP53 son propensos a tumores secundarios, es la omisión de la radiación de haz externo ⁸⁸. Cabe señalar que actualmente no hay evidencia para apoyar uno u otro enfoque. En concreto, sólo se evidencia de forma muy anecdótica que existe a nivel de reporte de un caso inédito que apoya que los pacientes con Li-Fraumeni tratados con quimioterapia suelen sobrevivir potencialmente. Otras nuevas terapias potenciales para este grupo que se discutió incluyendo litio como un sensibilizador de radio ⁹⁸. A la luz de su universalmente mal pronóstico, se logró un amplio consenso de que los nuevos enfoques de tratamiento se requieren con urgencia. Ya que este grupo es un raro subconjunto de pacientes con meduloblastoma, que estaría a favor de que se necesita un enfoque multinacional, incluyendo centros en Europa y América del Norte. Por otra parte, los pacientes con tumores SHH TP53 mutado casi siempre albergan lesiones vía abajo de SMO como GLI2 y / o MYCN; y como tal, no se prevé que respondan a los inhibidores de SMO ⁸⁶. Como actualmente no existen terapias dirigidas disponibles para este grupo, los grupos de investigación en todo el mundo deberían dar prioridad a los tumores SHH-TP53 mutado para la evaluación de nuevas estrategias terapéuticas.

Pacientes del Grupo 3 metastásico ha demostrado en varios estudios que tienen un mal pronóstico, incluida la agrupación MAGIC, HIT2000 y la cohorte de investigación del Reino Unido, en particular los que alberga una amplificación MYC. A medida que se necesitan con urgencia este tipo, nuevas y novedosas terapias. Este grupo debería tener prioridad para nuevas terapias iniciales en ensayos clínicos multicéntricos. Se requieren estudios adicionales para identificar agentes activos específicos contra este grupo. Los agentes específicos tratados incluyen al inhibidor de bromodomain, inhibición de aurora quinasa e inhibidores de histonas desacetilasas ^{82, 99, 100, 101}.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los tumores de sistema nervioso representan una enfermedad tumoral especial no solo por su agresividad, sino también por su localización que hace más difícil cualquier tipo de diagnóstico e intervención terapéutica. Los meduloblastomas se originan en el cerebelo y en el cuarto ventrículo y son propensos a diseminarse en todo el neuroeje del SNC e incluso fuera de él, se consideran tumores embrionarios y su clasificación se basa en criterios histopatológicos y en su localización anatómica (Sierrasesumaga, 2004).

A nivel mundial se considera como el tumor intracraneano más prevalente en la edad pediátrica (20 %), en nuestro país se considera como el segundo con mayor prevalencia 19 % (Chico-Ponce de León et al, 2007). Aunada a la clasificación histopatológica, la información molecular permitirá explorar vías que se encuentran alteradas en este tipo de tumor y propiciará el estudio de nuevos marcadores moleculares útiles en el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el subtipo de meduloblastoma predominante en los casos del HIMFG y de qué manera se relaciona su presentación con el pronóstico del paciente?

JUSTIFICACIÓN

La necesidad de proporcionar un tratamiento efectivo a los pacientes pediátricos con este tipo de tumor, aunado al desarrollo de la medicina genómica y epigenómica ha permitido describir vías moleculares que clasifican a los meduloblastomas en cuatro subtipos. Esta clasificación molecular se ha correlacionado significativamente con parámetros clínico-patológicos proporcionando un diagnóstico más preciso para el paciente y aumentando el conocimiento sobre la biología de este tipo de tumor.

OBJETIVOS

En base a la subclasificación de los meduloblastomas con las técnicas de RT-PCR e inmunohistoquímica en muestras de tumores de niños y adolescentes del Hospital Infantil de México se podrá conocer la evolución de estas neoplasias de acuerdo a su subtipo, así como su correlación con la presentación clínica.

HIPOTESIS

Cada subtipo de meduloblastoma en los casos estudiados de pacientes del HIMFG se relacionara con su presentación y con el pronóstico del paciente.

METODOLOGÍA

DISEÑO DE ESTUDIO.

Incluir aproximadamente 150 casos de meduloblastoma. En estos casos se realizará la técnica de IHQ y PCR en tiempo real. En el caso de la IHQ se utilizarán los anticuerpos contra β -catenina, GAB1 y YAP1. Se utilizará la técnica de inmunoperoxidasa. En el caso de la PCR en tiempo real se utilizará SYBR-Green para cuantificar los genes IMPG2 y NPR3 que son específicos del grupo 3 de meduloblastomas; los genes UNC5D y GRM8 que son específicos del grupo 4. De igual forma se realizará PCR cuantitativa para determinar la expresión del microRNA-135b y miR-592 que son específicos del grupo 3 y 4, respectivamente.

EXTRACCIÓN DE RNA

Los tejidos fijados en formol y preservados en parafina son una fuente importante para el análisis molecular especialmente en estudios de enfermedades raras, neuropatologías o epidemiología molecular. La principal dificultad en utilizar estos tejidos es la degradación de los ácidos nucleicos debida a varios factores como son: a) tiempo transcurrido entre la muerte del organismo y la inmersión en el fijador, b) tiempo de fijación y tipo de fijador, uno de los fijadores más comunes es el formaldehído utilizado. Esta técnica es útil en estudios retrospectivos cuando tejido congelado o suero no están disponibles.

Debido a la naturaleza lábil del RNA y al alto contenido de ribonucleasas en algunos tejidos, la degradación del RNA en muestras incluidas en parafina frecuentemente impide la obtención y evita el análisis de RNA. Varios factores influyen para poder obtener adecuada cantidad de ARN:

- a) Tiempo transcurrido entre la muerte del organismo y la inmersión en el fijador.
 - b) Tiempo y tipo de fijador. Tejidos fijados por más de 24 horas rara vez sirven para RT-PCR. El tiempo de fijación óptimo es de 6 a 24 horas.
 - d) Cortes de 20 micras de grosor para tejidos con 5 mm de diámetro
-
1. Se cortan secciones de 20 micras o menos, (10 micras).
 2. Limpiar la cuchilla del microtomo para remover ribonucleasas.
 3. Eliminar el exceso de parafina alrededor del corte con una navaja de bisturí
 4. Los primeros dos cortes se eliminan. Hacer los cortes y colocarlos inmediatamente en el microtubo y cerrar. Procesar las muestras inmediatamente debido a que la humedad y el aire pueden degradar parte del ARN.
 5. Se puede colocar una capa de parafina en el bloque recién cortado para que el tejido no esté en contacto con el aire o cubrirlo con papel parafilm.

Eliminación de parafina

1. Agregar 1 ml de xilol.
2. Incubar 2 veces 3 min. a 42 °C con agitación. Centrifugar en cada ocasión por 5 min.
3. Lavar con 1 ml de Et-OH absoluto 3 veces x 3 min. a T.A. y de preferencia con agitación; centrifugar en cada ocasión a máxima velocidad (14000 rpm).
4. Dejar evaporar el OH durante 5 min. a T.A o hasta que el tejido este completamente seco.

Digestión de los tejidos

5. Agregar 350 µl de buffer de digestión por muestra e incubar a 42 °C hasta que se observe sin tejido

	stock	Con. deseada	vol
Tris_HCl pH 7.8	1 M	20mM	7 µl
EDTA	0.5 M	10 mM	7 µl
Prot. K	20 mg/ml	500 µg/ml	11 µl
SDS	10 %	1 %	35 µl
H ₂ O			290 µl
Vol. total			350 µl

6. Incubar a 42 °C hasta que el corte se digiera (el tiempo varía de acuerdo al tiempo de fijación, edad del bloque y tipo de tejido). Después de las primeras 24 horas si todavía existe mucho tejido se pueden agregar 5 µl de proteinasa K (20 mg/ml) Se puede facilitar la disrupción de los tejidos mediante métodos físicos como maceración dentro del mismo tubo con un pistilo. En promedio la incubación es de 48 horas.

Extracción

6. Agregar 600 µl de Trizol (tiocianato de guanidina). Agitar.
7. Incubar por 5 min. a T.A.
8. Agregar 200 µl de cloroformo y agitar vigorosamente por 20 segundos.
9. Incubar 5 min. a T.A.
10. Centrifugar a alta vel. (14,000 rpm), 5 min. a t.a.
11. Transferir la fase acuosa a un tubo nuevo y medir el vol. que se extrae.
12. Agregar 2 µl de glucógeno (5 µg/µl) dentro de la muestra.
13. Agregar un volumen de isopropanol, esto es un vol. igual a l que se recuperó en la fase acuosa. Mezclar por inversión lentamente.
14. Incubar a -20 °C toda la noche.
15. Centrifugar a vel. máx. a 4 °C, 20 min.
16. Decantar, pastilla de RNA en el fondo.
17. Lavar pastilla con 1 ml de Et-OH al 75 %. Si persiste el olor del fenol hacer otro lavado igual.
18. Centrifugar a vel. máx. a 4 °C por 10 min.
19. Eliminar Et-OH.
20. Dejar secar la pastilla en un ambiente libre de ribonucleasas.
21. Resuspender el RNA en 30 µl de agua DEPC.

Continuar el tx. con DNasa

22. La pastilla de RNA se resuspende en 30 µl de agua tratada con DEPC
23. Se colocan en cada muestra 3 µl de buffer DNasa 10 X (Ambion 145012) + 1 µl de DNasa (2U/µl) (Ambion 145014). Se incuba 15 min a 37 °C y al cabo de este tiempo se agrega 0.1 vol de reactivo inactivador de la DNasa (Ambion 145013) esto es 3.4 µl. Se incuba por 2 min con una agitación intermedia a t.a.
24. Centrifugar durante 1 min a max vel para que el reactivo inactivador de la DNasa se quede en el fondo y obtener el sobrenadante en un tubo nuevo.
25. Almacenar a -20 °C.

RT-PCR

La reacción se lleva a cabo utilizando el sistema en un paso Titan RT-PCR (Boehringer-Mannheim, cat. 1855476). Las condiciones de la reacción son las recomendadas por el fabricante:

1. Descongelar reactivos en hielo, agitar en vortex (excepto enzimas), centrifugar antes de iniciar la mezcla de reactivos.
2. Se rotulan 2 tubos con M1 y M2 y se colocan en hielo. Se preparan las mezclas por separado en el orden que viene en las tablas, excepto el RNA que se pone al final
3. Se coloca primero la M1 en los tubos de PCR (0.2 ml) y posteriormente la M2.

Mezcla 1

Reactivo	stock	Conc. final	Vol. Final (µl)
H ₂ O	---	---	12
dATP	10 mM	0.2 mM	1
dCTP	10 mM	0.2 mM	1
dGTP	10 mM	0.2 mM	1
dTTP	10 mM	0.2 mM	1
oligo forward	15pm/µl	30 pm	2
oligo reverse	15pm/µl	30 pm	2
RNA	---	---	2
DTT	100 mM	5 mM	2.5
Inhibidor RNasas	40 U/µl	20 U/µl	0.5
Vol total			25

Mezcla 2

Reactivo	stock	Conc. final	Vol. Final (µl)
H ₂ O	---	---	13
Buffer con Mg	5x	1x	10
MgCl ₂ extra	25 mM	0.5 mM	1
Mezcla enzimas	---	---	1
Vol total			25

Ciclaje

50 °C	30 min	} 40 CICLOS
94 °C	2 min	
94 °C	1 min	
60 °C	1 min	
68 °C	45 seg	
68 °C	7 min	
4 °C		

Las secuencias de los oligonucleótidos utilizados son las siguientes:

Genes translocados	Secuencia	Tamaño en pares de bases del producto esperado
PGK	for 5'CAGTTTGGAGCTCCTGGAAG3' rev 5'TGCAAATCCAGGGTGCAGTG3'	247 pb
EWS22.2/ FLI1C	for 5'CTGGATCCTACAGCCAAGCTCCAAG3' rev 5'GTTGAGGCCAGAATTCATGTTA3'	fusión tipo1: 125pb fusión tipo2: 191pb
SSA/ SSX	for 5'AGACCAACACAGCCTGGACCAC3' rev5'TCCTCTGCTGGCTTCTTG3'	87 pb
EWSEx7/ WT1Ex8	for 5'TCCTACAGCCAAGCTCCAAGTC3' rev5'ACCTTCGTTACAGTCCTTG3'	103 pb
PAX7/ FKHR	for 5' GCTTCTCCAGCTACTCTGAC3' rev5' CTCTGGATTGAGCATCCACC3'	185 pb
PAX3/ FKHR	for 5'AGCTATACAGACAGCTTTGT3' rev 5' TCCAGTTCCTTCATTCTGCA3'	147pb

Para identificar los productos amplificados en la PCR se llevará a cabo el corrimiento electroforético

Electroforesis

1. Preparar gel de agarosa al 2 ó 2.5 % en buffer TAE 1X.. Para esto pesar 1.3 g de agarosa, colocar en matraz marcado con Et-Br y disolver en 65 ml de buffer TAE 1X, pesar en balanza (172 g aprox), calentar 2 min en horno, sacar agitar observando que se haya fundido completamente, pesar e ir colocando más buffer TAE 1X hasta llegar a los 172 g iniciales.
2. El buffer TAE 1X se prepara así: preparar 100 ml de TAE 1X agregando 98 ml de agua y 2 ml de buffer TAE 50X. Colocar cámara en campana, dejar que se enfríe un poco el agar fundido y agregar 3.5 µl de ET-Br en campana. Verter en cámara y colocar peine. Correr a 80 V (aprox. 100 min.).
3. Mezclar 2µl de buffer de carga (Roche) más 12 µl de muestra y cargar en pozos.
4. Utilizar 5 µl de P.M de 100 pb (Promega).
5. Todo con guantes por el Et-Br.
- 6.

La especificidad de este ensayo es casi del 100 % y de igual forma es altamente sensible como lo describe Fritsch et al. (2002)¹⁰³.

TAMAÑO MUESTRAL.

El tamaño de la muestra será por conveniencia, se incluirán los casos con diagnóstico de meduloblastoma de los años 1990 a 2016.

Criterios de inclusión: todos los casos de meduloblastomas que cuenten con diagnóstico, tengan material suficiente y en condiciones adecuadas de niños tratados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Criterios de exclusión: serán los casos que sean diagnosticados como recidiva, que no cuenten con el material suficiente o en buenas condiciones y que no tengan un diagnóstico correcto de niños tratados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente protocolo es una investigación sin riesgo para los pacientes ya que el universo a estudiar son tejidos almacenados en el departamento de patología, no se harán intervenciones directas en los pacientes. El presente estudio no traerá beneficios directos para los propietarios de las muestras, sin embargo es un beneficio social porque podrá apostar conocimiento nuevo acerca del comportamiento biológico de los meduloblastomas.

Confidencialidad: Nos comprometemos a asignar números seriados consecutivos con el fin de ocultar el número de biopsia asignado (número que vincula la biopsia con los datos clínicos de los pacientes) esto es para guardar absoluta confidencialidad de los datos del paciente.

PLAN DE ANALISIS DE LOS DATOS

Se utilizará estadística descriptiva. La asociación entre el subtipo molecular y los parámetros clínicos se determinará mediante la prueba de chi cuadrada. Un valor de $P \leq 0.05$ se considerará como significativo. Para la PCR en tiempo real se utilizará cuantificación relativa.

DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medición
Edad	Tiempo transcurrido entre el nacimiento y la presentación del tumor	El consignado en el estudio de patología	Cuantitativa discreta	Años y meses
Sexo	Fenotipo de los pacientes	El consignado en los expedientes	Cuantitativa nominal	Femenino o masculino
Localización tumoral	Localización espacial en el SNC	Fosa posterior, cerebelo o tallo	Cualitativa nominal	Fosa posterior, cerebelo o tallo
Tipo de histología	Aspecto histológico del tumor	Mediante estudio histológico, determinar tipo	Cuantitativa nominal	Clásico, Desmoplásico o nodular, Nodularidad extensa o Células grandes anaplásico
Expresión de mi-ARN	Valor de expresión en PCR	Medición con PCR en tiempo real	Cuantitativa continua	Valor numérico

RESULTADOS

Total de casos aplicando criterios de inclusión

Entre 1990 y 2016 se obtuvieron un total de 239 casos de pacientes con meduloblastoma, siendo el año con mayor incidencia 1991 con 13 casos y el menor 2007 con solo cuatro casos.

En total se incluyeron a 141 hombres (59%) y 98 mujeres (41%) con un promedio de edad de 6.3 años, siendo el menor de los pacientes de 4 meses y el mayor de 17 años.

De los 239 casos reportados como meduloblastoma el subtipo histológico correspondió en 177 (74.05%) casos al subtipo clásico, 48 (20.08%) casos al subtipo desmoplásico/nodular, 6 (2.51%) al subtipo nodularidad extensa y 8 (3.34%) al subtipo Anaplásico/células gigantes.

En cuanto a la localización dentro del sistema nervioso central, los meduloblastomas se encontraron en 199 (83.2%) casos en la fosa posterior, 21 (8.78%) casos con extensión a la región supratentorial y 19 (7.94%) con extensión a otras localizaciones como el tallo cerebral y meninges, algunos de ellos no pudieron ser identificados como primarios del cerebelo y se comentó en una nota.

En total los 239 casos aportan una cantidad de 895 bloques con un promedio de 3.74 bloques por caso.

Del total de los 239 casos, 135 (56.48%) contaban con uno a tres bloques, 88 (36.82%) con 4 a 6 bloques, 11 (4.60%) con 7 a 9 bloques y solo 5 (2.09%) con 10 a 11 bloques.

Total de casos al aplicar criterios de exclusión

Del total de los 239 casos de meduloblastoma 36 casos fueron excluidos por tratarse de recidivas de casos ya diagnosticados anteriormente y debían ser retirados ya que se contaba con material y además en las recidivas puede haber cambios debidos a terapia previa.

Del total de 203 casos restantes se realizaron 12 revisiones con el Dr. Mario Pérez-Peña Díaz-Conti de las laminillas (Tabla 1), para corroborar el diagnóstico, seleccionar 2 laminillas de cada caso cuando el mismo contara con más de dos y una en caso de contar con solo un bloque y una laminilla.

Del total de los 203 casos, después de las 12 revisiones se eliminaron todos los casos que contaban con material insuficiente, exceso de hemorragia o contaminación, algunos otros fueron excluidos al conocer que tenían diferente localización quedando 160 casos con laminillas que contenían material apto para ser procesado para estudios de biología molecular (Tabla 2.)

Tabla 1. Revisión de casos Dr. Pérez-Peña Díaz-Conti		
Revisión	Fecha	No. Casos
Primera revisión	01/11/2016	16
Segunda revisión	03/11/2016	11
Tercera revisión	04/11/2016	11
Cuarta revisión	08/11/2016	10
Quinta revisión	09/11/2016	11
Sexta revisión	14/11/2016	11
Séptima revisión	15/11/2016	10
Octava revisión	16/11/2016	11
Novena revisión	24/11/2016	11
Decima revisión	09/01/2017	11
Décimo primera revisión	12/01/2017	11
Décimo segunda revisión	14/02/2017	79
		203

Con los criterios de inclusión y exclusión los 160 casos de meduloblastoma de los cuales, 100 hombres (62.5%) y 60 mujeres (37.5%) con un promedio de edad de edad de 6.6 años, siendo el menor de los pacientes de 4 meses y el mayor de 17 años (Gráfico 6 ver anexos). 103 (64.3%) casos correspondieron al subtipo clásico, 42 (26.25%) casos al subtipo desmoplásico/nodular, 7 (4.37%) al subtipo nodularidad extensa y 8 (5%) al subtipo anaplásico/células gigantes (Gráfico 7 ver anexos).

En cuanto a la localización dentro del sistema nervioso central, todos los meduloblastomas se encontraron en la fosa posterior.

Del total de los 160 solo a 96 de ellos se les realizó estudio transoperatorio. En total los 160 casos aportaron una cantidad de 140 bloques con un promedio de 1.5 bloques por caso.

Del subtipo Clásico NOS 64 (62.13%) casos correspondían al sexo masculino y 39 (37.86%) casos al sexo femenino con un promedio de 6.8 años de edad al momento del diagnóstico.

Del subtipo Desmoplásico / Nodular 27 (64.28%) casos correspondían al sexo masculino y 15 (35.7%) casos al sexo femenino con un promedio de 6.28 años de edad al momento del diagnóstico.

Del subtipo Nodularidad extensa 3 (42.85%) casos correspondían al sexo masculino y 4 (57.14%) casos al sexo femenino con un promedio de 4.26 años de edad al momento del diagnóstico.

Del subtipo de células grandes / anaplásico 6 (75%) casos correspondían al sexo masculino y 2 (25%) casos al sexo femenino con un promedio de 8 años de edad al momento del diagnóstico.

Tabla 2. Casos con laminillas con material adecuado para estudios de biología molecular.

Quirúgico	Quirúgico	Quirúgico	Quirúgico	Quirúgico
Q-90-231	Q-96-280	Q-02-75	Q07-146	Q14-27
Q-90-416	Q-96-1197	Q-02-232	Q-07-408	Q14-358
Q-90-883	Q-96-1312	Q-02-1134	Q-07-997	Q14-743
Q-90-914	Q-96-1431	Q-02-1365	Q-07-2313	Q14-1140
Q90-1352	Q-96-2364	Q-02-1578	Q-08-659	Q14-1265
Q-90-1522	Q-97-1254	Q-02-2248	Q-08-1072	Q14-1448
Q-91-401	Q-97-1513	Q-03-68	Q-08-1178	Q14-1721
Q-91-653	Q-97-1851	Q-03-108	Q-08-1457	Q14-1728
Q-91-786	Q-97-2075	Q-03-337	Q-08-1792	Q14-1807
Q-91-822	Q-98-303	Q-03-472	Q-08-2237	Q14-1879
Q-91-891	Q-98-477	Q-03-1238	Q-08-2348	Q15-21
Q-91-1120	Q-98-737	Q-03-1523	Q-09-644	Q15-317
Q-91-1490	Q-98-1097	Q-03-1918	Q-09-1034	Q15-949
Q-91-1582	Q-98-1171	Q-03-2140	Q-09-1238	Q15-1483
Q-91-1857	Q-99-569	Q-04-153	Q-09-1334	Q15-1505
Q-92-359	Q-99-1374	Q-04-301	Q-09-2357	Q15-2172
Q-92-516	Q-99-1595	Q-04-310	Q-10-607	Q15-2243
Q-92-884	Q-00-08	Q-04-445	Q-10-1129	Q15-2492
Q-92-1238	Q-00-670	Q-04-714	Q-11-01	Q16-305
Q-92-1346	Q-00-970	Q-04-1198	Q-11-11	Q16-721
Q-92-1677	Q-00-1541	Q-04-1720	Q-11-111	Q16-728
Q-93-932	Q-00-1593	Q-05-188	Q-11-474	Q16-592
Q-93-1828	Q-01-61	Q-05-705	Q-11-1772	Q16-1643
Q-94-42	Q-01-92	Q-05-821	Q-11-1936	Q16-1752
Q-94-101	Q-01-790	Q-05-1921	Q-11-2168	Q16-1839
Q-94-479	Q-01-1381	Q-05-2035	Q12-520	Q16-1912
Q-94-824	Q-01-1523	Q-05-2179	Q12-656	Q16-1923
Q-94-1029	Q-01-1707	Q-05-2206	Q12-1724	Q16-2380
Q-94-1381	Q-01-2196	Q-06-39	Q13-112	
Q-95-1172		Q-06-190	Q13-170	
Q-95-1558		Q-06-537	Q13-187	
Q-95-2019		Q-06-1061	Q-13-334	
		Q-06-1132	Q13-351	
		Q-06-1870	Q13-967	
			Q13-1401	
			Q13-1536	
			Q13-1623	

DISCUSIÓN

Analizando este estudio de forma general sin aplicar los criterios de inclusión y de exclusión para la obtención de casos el año con mayor incidencia fue 1991 con 13 casos y el menor 2007 con solo cuatro casos y el 59% correspondió a hombres y 41% a mujeres con un promedio de edad de 6.3 años, siendo el menor de los pacientes de 4 meses y el mayor de 17 años. En este análisis general sin aplicar los criterios antes mencionados de los 239 casos reportados como meduloblastoma el subtipo histológico mas comun fue el clásico NOS, y el menor fue el subtipo desmoplásico/nodular.

En cuanto a la localización dentro del sistema nervioso central, los meduloblastomas se encontraron en 83.2% en la fosa posterior, y 8.78% casos con extensión a otra región, lo que obligo a un analisis detallado para establecer si las lesiones correspondian a la región supratentorial u otra y no precisamente a la fosa posterior, algunos de ellos no pudieron ser identificados como primarios del cerebelo y se excluyeron utilizando los criterios antes mencionados. En total de todo el universo de donde se extrajo la muestra los 239 casos aportaron un promedio de 3.74 bloques por caso sien la mayoría de uno a tres bloques y muy pocos tenían un muestreo extenso de 10 a 11 bloques.

Después de aplicar los criterios de inclusión y exclusión nuestra muestra conto con un total de 160 casos de meduloblastoma de los cuales, el porcentaje de hombres se incremento a 62.5% y el de mujeres se redujo 37.5% pero manteniendo una proporción hombre:mujer 1.5:1 con un promedio de edad de 6.6 años, siendo el menor de los pacientes de 4 meses y el mayor de 17 años. El 64.3% de los correspondio al subtipo clásico, 26.25% al subtipo desmoplásico/nodular, 5% al subtipo anaplásico/células gigantes y 4.37% al subtipo nodularidad extensa. De igual forma que en el total de casos de 1990 a 2016 el porcentaje de cada grupo de casos guardio una relación proporcional en la muestra final.

Analizando la relación de sexo y edad por subtipo en el subtipo Clásico NOS 62.13% casos correspondían al sexo masculino y solo 37.86% casos al sexo femenino con un promedio de 6.8 años de edad al momento del diagnóstico. En el subtipo Desmoplásico / Nodular 64.28% casos correspondían al sexo masculino y 35.7% casos al sexo femenino con un promedio de 6.28 años de edad al momento del diagnóstico. En el subtipo de Células Grandes / Anaplásico 75% casos correspondían al sexo masculino y 25% casos al sexo femenino con un promedio de 8 años de edad al momento del diagnóstico y en el subtipo Nodularidad Extensa 42.85% casos correspondían al sexo masculino y 57.14% casos al sexo femenino con un promedio de 4.26 años de edad al momento del diagnóstico.

Con estos datos el subtipo de Nodularidad Extensa se presentó con un promedio menor de edad que los demás subtipos y el subtipo de Células Grandes / desmoplásico se presentó en niños mayores con un promedio de 8 años, el subtipo clásico y el Desmoplásico Nodular se mantuvieron con un promedio de 6.8 y 6.28 años en la presentación.

Con respecto al sexo en el subtipo de células gigantes / anaplásico se encontró el mayor predominio de sexo siendo de 75% para hombres, tanto en el subtipo clásico NOS como en el desmoplásico / nodular el predominio fue en hombres con 62.13% y 64.28% respectivamente y el único subgrupo donde se invirtió el predominio de sexo fue en el subtipo Nodularidad Extensa donde 57.14% de los casos correspondían al sexo femenino.

En cuanto a la localización dentro del sistema nervioso central, como uno de los criterios de exclusión fue que el tumor se localizara en el cerebelo todos los meduloblastomas se encontraron en la fosa posterior y solo al 60% de ellos se les realizó estudio transoperatorio.

El total los 160 casos aportaron una cantidad de 140 bloques con un promedio de 1.5 bloques por caso. Del total de los casos se seleccionó un solo bloque para realizar cortes y realizar los estudios de biología molecular.

CONCLUSIONES

En la actualización de la clasificación de la OMS, los meduloblastomas se clasifican según características moleculares además de características histopatológicas. La clasificación molecular se refiere a la agrupación de los meduloblastomas en grupos sobre la base del transcriptoma o perfilado de metiloma y se ha introducido debido a su creciente utilidad clínica. También se ha mantenido una clasificación histopatológica, debido a su utilidad clínica cuando el análisis molecular es limitado o no es factible.

Los estudios de perfil de transcriptoma de meduloblastomas indican que estos tumores se pueden separar en varios grupos moleculares distintos, Los cuatro grupos principales surgieron de la agrupación de análisis después de transcriptoma, microRNA, y perfilado de metiloma, y existe una excelente concordancia a través de estas plataformas para la asignación de tumores individuales. También hay asociaciones significativas entre los cuatro grupos y alteraciones genéticas específicas y variables clínico-patológicas.

En la clasificación actualizada de la OMS, los meduloblastomas activados con WNT (que representan el -10% de los casos) y los meduloblastomas activados con SHH (-30% de los casos) se enumeran aparte de los tumores no WNT / no SHH, que comprenden los tumores del grupo 3 (-20% de los casos) y los tumores del grupo 4 (-40% de los casos). Los meduloblastomas de los grupos 3 y 4 se enumeran como variantes provisionales, ya que no están tan bien separados como los meduloblastomas activados con SHN y activados con SHH en los análisis de agrupamiento molecular y por los ensayos de laboratorio clínicos actuales.

El meduloblastoma siempre ha sido considerado como un tumor embrionario del cerebelo. Sin embargo, se cree que los meduloblastomas activados por WNT surgen de células en el tronco cerebral dorsal, aunque no todos los tumores embrionarios del tronco encefálico son meduloblastomas activados con WNT.

Las variantes morfológicas establecidas del meduloblastoma (es decir, meduloblastoma desmoplásico / nodular, meduloblastoma con nodularidad extensa y meduloblastomas de células grandes o anaplásicos) tienen sus propias asociaciones clínicas particulares. Las variantes de células grandes y anaplásicos de los meduloblastomas se enumeraron como variantes separadas en la versión anterior de la clasificación, pero debido a que casi todos los tumores de células grandes también demuestran un componente anaplásico y ambas variantes se asocian con un resultado pobre, se consideran comúnmente para fines clínicos como estar en una única categoría combinada de meduloblastoma de células grandes / anaplásico.

Las variantes moleculares y morfológicas del meduloblastoma enumeradas en la nueva clasificación demuestran relaciones particulares. Todos los verdaderos meduloblastomas desmoplásicos / nodulares y meduloblastomas con nodularidad extensa se alinean con el grupo molecular activado por SHH. Virtualmente todos los tumores activados por WNT tienen morfología clásica. La mayoría de los grandes tumores de células / anaplásicos pertenecen al grupo SHH-activado o al grupo 3.

En la clasificación actualizada se pretende fomentar un enfoque integrado del diagnóstico. Cuando el análisis molecular es factible, los datos combinados tanto en el grupo molecular como en la variante morfológica proporcionan información pronóstica y predictiva óptima.

Los meduloblastomas activados con SHH son un grupo heterogéneo; Un tumor con mutación TP53 y una morfología anaplásica / celular grande tiene un pronóstico abismal, en contraste con los meduloblastomas TP53-wildtype activados con SHH y con nodularidad extensa, que tienen un buen resultado clínico si se tratan adecuadamente.

Algunas alteraciones genéticas moleculares utilizadas actualmente en la estratificación de riesgo de meduloblastomas, como la amplificación de MYC, no están incluidas en la clasificación, pero podrían ser incorporadas en un diagnóstico integrado que agrupa el grupo molecular, la variante histopatológica y la alteración genética específica para mejorar el nivel de precisión del diagnóstico.

Los ensayos inmunohistoquímicos que trabajan sobre tejido fijado en formalina fijado en parafina y están fácilmente disponibles en todo el mundo se pueden utilizar para discernir algunas variantes genéticamente definidas de meduloblastoma y alteraciones genéticas con utilidad clínica. Sin embargo, la clasificación actualizada no hace recomendaciones específicas sobre los méritos de los diversos métodos para determinar grupos moleculares o alteraciones genéticas.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

No se podrá realizar el estudio de los bloques de tejido fijado en formol y embebido en parafina que hayan sido extraídos para su revisión en otro lugar, que se encuentren en mal estado o que no se encuentren el archivo de bloques del servicio de Patología Pediátrica del Hospital Infantil de México.

BIBLIOGRAFÍA.

1. Richard A. Prayson, MD. Neuropathology, 2nd Edition; A Volume in the Series: Foundations in Diagnostic Pathology 2005 pag. 534-535.
2. Giangaspero F, Ebehart CG, Haapasalo H, Pietsch T, Wiestler OD, Ellison DW (2007) Medulloblastoma (Chapter 8). In: WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System. DN Louis, H Ohgaki, OD Wiestler, WK Cavenee (eds), pp. 132–140. IARC: Lyon.
3. Cho Y-J, Tsherniak A, Tamayo P, Santagata S, Ligon A, Greulich H et al (2011) Integrative genomic analysis of medulloblastoma identifies a molecular subgroup that drives poor clinical outcome. *J Clin Oncol* 29:1424–1430. doi:10.1200/JCO.2010.28.5148
4. Kool M, Koster J, Bunt J, Hasselt NE, Lakeman A, van Sluis P et al (2008) Integrated genomics identifies five medulloblastoma subtypes with distinct genetic profiles, pathway signatures and clinicopathological features. *PLoS One* 3:e3088. doi: 10.1371/journal.pone.0003088
5. Northcott PA, Korshunov A, Witt H, Hielscher T, Eberhart CG, Mack S et al (2011) Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. *J Clin Oncol* 29:1408–1414. doi:10.1200/JCO.2009.27.4324
6. Remke M, Hielscher T, Korshunov A, Northcott PA, Bender S, Kool M et al (2011) FSTL5 Is a marker of poor prognosis in non-WNT/non-SHH medulloblastoma. *J Clin Oncol* 29:3852–3861. doi:10.1200/jco.2011.36.2798
7. Taylor MD, Northcott PA, Korshunov A, Remke M, Cho YJ, Clifford SC et al (2012) Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathol* 123:465–472. doi:10.1007/s00401-011-0922-z
8. Thompson MC, Fuller C, Hogg TL, Dalton J, Finkelstein D, Lau CC et al (2006) Genomics identifies medulloblastoma subgroups that are enriched for specific genetic alterations. *J Clin Oncol* 24:1924–1931. doi:10.1200/JCO.2005.04.4974
9. Gottardo NG, Hansford JR, McGlade JP, Alvaro F, Ashley DM, Bailey S et al (2014) Medulloblastoma Down Under 2013: a report from the third annual meeting of the International Medulloblastoma Working Group. *Acta Neuropathol* 127:189–201. doi:10.1007/s00401-013-1213-7
10. David N. Louis, Arie Perry, Guido Reifenberger, Andreas von Deimling, Dominique Figarella-Branger, Webster K. Cavenee et al The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary *Acta Neuropathol* (2016) 131:803–820 DOI 10.1007/s00401-016-1545-1
11. Varley JM, Evans DG, Birch JM (1997) Li-Fraumeni syndrome—a molecular and clinical review. *Br J Cancer* 76:1–14
12. Rausch T, Jones DTW, Zapatka M, Stütz AM, Zichner T, Weischenfeldt J, Jäger N, Remke M, Shih D, Northcott PA et al (2012) Genome sequencing of pediatric medulloblastoma links catastrophic DNA rearrangements with TP53 mutations. *Cell* 148:59–71
13. Kool M, Jones DTW, Jäger N, Northcott PA, Pugh TJ, Hovestadt V, Piro RM, Esparza LA, Markant SL, Remke M et al (2014) Genome Sequencing of SHH Medulloblastoma Predicts Genotype-Related Response to Smoothed Inhibition. *Cancer Cell* 25:393–405
14. Zhukova N, Ramaswamy V, Remke M, Pfaff E, Shih DJH, Martin DC, Castelo-Branco P, Baskin B, Ray PN, Bouffet E et al (2013) Subgroup-specific prognostic implications of TP53 mutation in medulloblastoma. *J Clin Oncol* 31:2927–2935

15. Evans DG, Farndon PA, Burnell LD, Gattamaneni HR, Birch JM (1991) The incidence of Gorlin syndrome in 173 consecutive cases of medulloblastoma. *Br J Cancer* 64:959–961
16. Farndon PA, Del Mastro RG, Evans DG, Kilpatrick MW (1992) Location of gene for Gorlin syndrome. *Lancet* 339:581–582
17. Huang H, Mahler-Araujo BM, Sankila A, Chimelli L, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H (2000) APC mutations in sporadic medulloblastomas. *Am J Pathol* 156:433–437
18. Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, Papadopoulos N, Jen J, Powell SM, Krush AJ, Berk T, Cohen Z, Tetu B (1995) The molecular basis of Turcot's syndrome. *N Engl J Med* 332:839–847
19. Kushner BH, LaQuaglia MP, Wollner N, Meyers PA, Lindsley KL, Ghavimi F, Merchant TE, Boulad F, Cheung NK, Bonilla MA et al (1996) Rubinstein–Taybi Syndrome Predisposing to Non-WNT, Non-SHH, Group 3 Medulloblastoma. *J Clin Oncol* 14:1526–1531
20. Ellison DW, Onilude OE, Lindsey JC, Lusher ME, Weston CL, Taylor RE, Pearson AD, Clifford SC (2005) B-catenin status predicts a favorable outcome in childhood medulloblastoma: The United Kingdom Children's Cancer Study Group Brain Tumour Committee. *J Clin Oncol* 23:7951–7957
21. Kool M, Korshunov A, Remke M, Jones DTW, Schlanstein M, Northcott PA, Cho YJ, Koster J, Schouten-Van Meeteren A, Van Vuurden D et al (2012) Molecular subgroups of medulloblastoma: An international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. *Acta Neuropathol* 123:473–484
22. Northcott PA, ShihDJH, PeacockJ, GarziaL, MorrissyAS, Zichner T, Stütz AM, Korshunov A, Reimand J, Schumacher SE et al (2012) Subgroup-specific structural variation across 1,000 medulloblastoma genomes. *Nature* 488:49–56
23. Patapoutian A, Reichardt LF (2000) Roles of Wnt proteins in neural development and maintenance. *Curr Opin Neurobiol* 10:392–399
24. Marino S (2005) Medulloblastoma: Developmental mechanisms out of control. *Trends Mol Med* 11:17–22
25. Jones DTW, Jäger N, Kool M, Zichner T, Hutter B, Sultan M, Cho Y-J, Pugh TJ, Hovestadt V, Stütz AM et al (2012) Dissecting the genomic complexity underlying medulloblastoma. *Nature* 488: 100–105
26. Robinson G, Parker M, Kranenburg TA, Lu C, Chen X, Ding L, Phoenix TN, Hedlund E, Wei L, Zhu X (2012) Novel mutations target distinct subgroups of medulloblastoma. *Nature* 488:43–48
27. Pugh TJ, Weeraratne SD, Archer TC, Pomeranz Krummel DA, Auclair D, Bochicchio J, Carneiro MO, Carter SL, Cibulskis K, Erlich RL et al (2012) Medulloblastoma exome sequencing un-covers subtype-specific somatic mutations. *Nature* 488:106–110
28. Gibson P, Tong Y, Robinson G, Thompson MC, Currle DS, Eden C, Kranenburg TA, Hogg T, Poppleton H, Martin J et al (2010) Subtypes of medulloblastoma have distinct developmental origins. *Nature* 468:1095–1099
29. Pöschl J, Stark S, Neumann P, Gröbner S, Kawauchi D, Jones DTW, Northcott PA, Lichter P, Pfister SM, Kool M et al (2014) Genomic and transcriptomic analyses match medulloblastoma mouse models to their human counterparts. *Acta Neuropathol* 128:123–136
30. Northcott PA, Korshunov A, Witt H, Hielscher T, Eberhart CG, Mack S, Bouffet E, Clifford SC, Hawkins CE, French P et al (2011) Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. *J Clin Oncol* 29:1408–1414
31. Ramaswamy V, Remke M, Adamski J, Bartels U, Tabori U, Wang X, Huang a., Hawkins C, Mabbott D, Laperriere N, et al. (2015) Medulloblastoma subgroup-specific

- outcomes in irradiated children: who are the true high-risk patients? *Neuro Oncol* 18:291–297. doi: 10.1093/neuonc/nou357
32. Hatten ME, Roussel MF (2011) Development and cancer of the cerebellum. *Trends Neurosci* 34:134–142
 33. Northcott PA, Hielscher T, Dubuc A, Mack S, Shih D, Remke M, Al-Halabi H, Albrecht S, Jabado N, Eberhart CG et al (2011) Pediatric and adult sonic hedgehog medulloblastomas are clinically and molecularly distinct. *Acta Neuropathol* 122:231–240
 34. Horn S, Figl A, Rachakonda PS, Fischer C, Sucker A, Gast A, Kadel S, Moll I, Nagore E, Hemminki K et al (2013) TERT promoter mutations in familial and sporadic melanoma. *Science* 339: 959–961
 35. Huang FW, Hodis E, Xu MJ, Kryukov GV, Chin L, Garraway LA (2013) Highly recurrent TERT promoter mutations in human melanoma. *Science* 339:957–959
 36. Goodrich LV, Milenković L, Higgins KM, Scott MP (1997) Altered neural cell fates and medulloblastoma in mouse patched mutants. *Science* 277:1109–1113
 37. Uziel T, Zindy F, Xie S, Lee Y, Forget A, Magdaleno S, Rehg JE, Calabrese C, Solecki D, Eberhart CG et al (2005) The tumor suppressors Ink4c and p53 collaborate independently with Patched to suppress medulloblastoma formation. *Genes Dev* 19:2656–2667
 38. Ayrault O, Zindy F, Rehg J, Sherr CJ, Roussel MF (2009) Two tumor suppressors, p27Kip1 and patched-1, collaborate to prevent medulloblastoma. *Mol Cancer Res* 7:33–40
 39. Wetmore C, Eberhart DE, Curran T (2001) Loss of p53 but not ARF accelerates medulloblastoma in mice heterozygous for patched. *Cancer Res* 61:513–516
 40. Hatton BA, Villavicencio EH, Tsuchiya KD, Pritchard JI, Ditzler S, Pullar B, Hansen S, Knoblauch SE, Lee D, Eberhart CG et al (2008) The Smo/Smo model: Hedgehog-induced medulloblastoma with 90% incidence and leptomeningeal spread. *Cancer Res* 68:1768–1776
 41. Hallahan AR, Pritchard JI, Hansen S, Benson M, Stoeck J, Hatton BA, Russell TL, Ellenbogen RG, Bernstein ID, Beachy PA et al (2004) The SmoA1 mouse model reveals that notch signaling is critical for the growth and survival of Sonic Hedgehog-induced medulloblastomas. *Cancer Res* 64:7794–7800
 42. Grammel D, Warmuth-Metz M, Von Bueren AO, Kool M, Pietsch T, Kretzschmar HA, Rowitch DH, Rutkowski S, Pfister SM, Schüller U (2012) Sonic hedgehog-associated medulloblastoma arising from the cochlear nuclei of the brainstem. *Acta Neuropathol* 123:601–614
 43. Yang ZJ, Ellis T, Markant SL, Read TA, Kessler JD, Bourbonlous M, Schüller U, Machold R, Fishell G, Rowitch DH et al (2008) Medulloblastoma Can Be Initiated by Deletion of Patched in Lineage-Restricted Progenitors or Stem Cells. *Cancer Cell* 14: 135–145
 44. Wu X, Northcott PA, Dubuc A, Dupuy AJ, Shih DJH, Witt H, Croul S, Bouffet E, Fuhs DW, Eberhart CG et al (2012) Clonal selection drives genetic divergence of metastatic medulloblastoma. *Nature* 482:529–533
 45. Dey J, Dubuc AM, Pedro KD, Thirstrup D, Mecham B, Northcott PA, Wu X, Shih D, Tapscott SJ, LeBlanc M et al (2013) MyoD is a tumor suppressor gene in medulloblastoma. *Cancer Res* 73:6828–6837
 46. Genovesi LA, Ng CG, Davis MJ, Remke M, Taylor MD, Adams DJ, Rust AG, Ward JM, Ban KH, Jenkins NA et al (2013) Sleeping Beauty mutagenesis in a mouse medulloblastoma model defines networks that discriminate between human molecular subgroups. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: E4325–E4334

47. Ramaswamy V, Remke M, Bouffet E, Faria CC, Perreault S, Cho Y-J, Shih DJ, Luu B, Dubuc AM, Northcott PA et al (2013) Recurrence patterns across medulloblastoma subgroups: an integrated clinical and molecular analysis. *Lancet Oncol* 14:1200–1207
48. Taylor MD, Northcott PA, Korshunov A, Remke M, Cho YJ, Clifford SC, Eberhart CG, Parsons DW, Rutkowski S, Gajjar A et al (2012) Molecular subgroups of medulloblastoma: The current consensus. *Acta Neuropathol* 123:465–472
49. Tseng Y-Y, Moriarity BS, Gong W, Akiyama R, Tiwari A, Kawakami H, Ronning P, Reuland B, Guenther K, Beadnell TC et al (2014) PVT1 dependence in cancer with MYC copy-number increase. *Nature*. doi:10.1038/nature13311
50. CARRAMUSA L, CONTINO F, FERRO A, MINAFRA L, PERCONTI G, GIALLONGO A, FEO S (2007) The PVT-1 Oncogene Is a Myc Protein Target That Is Overexpressed in Transformed Cells. *J Cell Physiol* 213:440–444
51. Bai RY, Staedtke V, Lidov HG, Eberhart CG, Riggins GJ (2012) OTX2 represses myogenic and neuronal differentiation in medulloblastoma cells. *Cancer Res* 72:5988–6001
52. Bunt J, Hasselt NA, Zwijnenburg DA, Koster J, Versteeg R, Kool M (2013) OTX2 sustains a bivalent-like state of OTX2-bound promoters in medulloblastoma by maintaining their H3K27me3 levels. *Acta Neuropathol* 125:385–394
53. Young MD, Willson TA, Wakefield MJ, Trounson E, Hilton DJ, Blewitt ME, Oshlack A, Majewski IJ (2011) ChIP-seq analysis reveals distinct H3K27me3 profiles that correlate with transcriptional activity. *Nucleic Acids Res* 39:7415–7427
54. Pei Y, Moore CE, Wang J, Tewari AK, Eroshkin A, Cho YJ, Witt H, Korshunov A, Read TA, Sun JL et al (2012) An Animal Model of MYC-Driven Medulloblastoma. *Cancer Cell* 21:155–167
55. Kawauchi D, Robinson G, Uziel T, Gibson P, Rehg J, Gao C, Finkelstein D, Qu C, Pounds S, Ellison DW et al (2012) A Mouse Model of the Most Aggressive Subgroup of Human Medulloblastoma. *Cancer Cell* 21:168–180
56. Lee A, Kessler JD, Read T-A, Kaiser C, Corbeil D, Huttner WB, Johnson JE, Wechsler-Reya RJ (2005) Isolation of neural stem cells from the postnatal cerebellum. *Nat Neurosci* 8:723–729
57. Sengoku T, Yokoyama S (2011) Structural basis for histone H3 lys 27 demethylation by UTX/KDM6A. *Genes Dev* 25:2266–2277
58. Kim E, Song JJ (2011) Diverse ways to be specific: A novel zn-binding domain confers substrate specificity to UTX/KDM6a his-tone H3 lys 27 demethylase. *Genes Dev* 25:223–2226
59. Kooistra SM, Helin K (2012) Molecular mechanisms and potential functions of histone demethylases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 13:297–311
60. Wan OW, Chung KKK (2012) The role of alpha-synuclein oligomerization and aggregation in cellular and animal models of Parkinson's disease. *PLoS One* 7:1–14
61. Dubuc AM, Remke M, Korshunov A, Northcott PA, Zhan SH, Mendez-Lago M, Kool M, Jones DTW, Unterberger A, Morrissy AS et al (2013) Aberrant patterns of H3K4 and H3K27 histone lysine methylation occur across subgroups in medulloblastoma. *Acta Neuropathol* 125:373–384
62. Northcott PA, Nakahara Y, Wu X, Feuk L, Ellison DW, Croul S, Mack S, Kongkham PN, Peacock J, Dubuc A et al (2009) Multiple recurrent genetic events converge on control of histone lysine methylation in medulloblastoma. *Nat Genet* 41:465–472
63. Ong C-T, Corces VG (2012) Enhancers: emerging roles in cell fate specification. *EMBO Rep* 13:423–430
64. Northcott PA, Lee C, Zichner T, Stütz AM, Erkek S, Kawauchi D, Shih DJH, Hovestadt V, Zapatka M, Sturm D et al (2014) Enhancer hijacking activates GF11 family oncogenes in medulloblastoma. *Nature*. doi:10.1038/nature13379

65. Wu W, Sun M, Zou GM, Chen J. MicroRNA and cancer: Current status and prospective. *Int J Cancer* 2007; 120:953-60.
66. Zhang B, Pan X, Cobb GP, Anderson TA. microRNAs as oncogenes and tumor suppressors. *Dev Biol* 2007; 302:1-12.
67. Ellison DW, Dalton J, Kocak M, Nicholson SL, Fraga C, Neale G et al (2011) Medulloblastoma: clinicopathological correlates of SHH, WNT, and non-SHH/WNT molecular subgroups. *Acta Neuropathol* 121:381–396.
68. Kunder R, Jalali R, Sridhar E, Moiyadi A, Goel N, Goel A et al (2013) Real-time PCR assay based on the differential expression of microRNAs and protein-coding genes for molecular classification of formalin-fixed paraffin embedded medulloblastomas. *Neuro-Oncol* 15:1644–1651.
69. Northcott PA, Shih DJH, Remke M, Cho YJ, Kool M, Hawkins C et al (2012) Rapid, reliable, and reproducible molecular sub-grouping of clinical medulloblastoma samples. *Acta Neuropathol* 123:615–626.
70. Ellison DW, Kocak M, Dalton J, Megahed H, Lusher ME, Ryan SL et al (2011) Definition of disease—risk stratification groups in childhood medulloblastomas using combined clinical, pathological, and molecular variables. *J Clin Oncol* 29:1400–1407.
71. Pfister S, Remke M, Benner A, Mendrzyk F, Toedt G, Felsberg J et al (2009) Outcome prediction in pediatric medulloblastoma based on DNA copy-number aberrations of chromosomes 6q and 17q and the MYC and MYCN loci. *J Clin Oncol* 27:1627–1636.
72. Shih DJH, Northcott PA, Remke M, Korshunov A, Ramaswamy V, Kool M et al (2014) Cytogenetic prognostication within medulloblastoma subgroups. *Clin Oncol* 32:886–896.
73. Zeltzer PM, Boyett JM, Finlay JL, Albright AL, Rorke LB, Milstein JM et al (1999) Metastasis stage, adjuvant treatment, and residual tumor are prognostic factors for medulloblastoma in children: conclusions from the Children’s Cancer Group 921 randomized phase III study. *J Clin Oncol* 17:832–845
74. Lannering B, Rutkowski S, Doz F, Pizer B, Gustafsson G, Navajas A et al (2012) Hyperfractionated versus conventional radiotherapy followed by chemotherapy in standard-risk medulloblastoma: results from the randomized multicenter HIT-SIOP PNET 4 trial. *J Clin Oncol* 30:3187–3193. doi:10.1200/jco.2011.39.8719
75. Clifford SC, Lannering B, Schwalbe EC, Hicks D, Toole KO, Nicholson SL et al. (2015) Biomarker-driven stratification of disease-risk in non-metastatic medulloblastoma: Results from the multi-center HIT-SIOP-PNET4 clinical trial. *Oncotarget* 6:38827–38839. doi:10.18632/oncotarget.5149
76. Cochrane DD, Gustavsson B, Poskitt KP, Steinbok P, Kestle JR (1994) The surgical and natural morbidity of aggressive resection for posterior fossa tumors in childhood. *Pediatr Neurosurg* 20:19–29
77. Moxon-Emre I, Bouffet E, Taylor MD, Laperriere N, Scantlebury N, Law N et al. (2014) Impact of craniospinal dose, boost volume, and neurologic complications on intellectual outcome in patients with medulloblastoma. *J Clin Oncol* 32:1760–1768. doi:10.1200/jco.2013.52.3290
78. Mulhern RK, Palmer SL, Merchant TE, Wallace D, Kocak M, Brouwers P et al (2005) Neurocognitive consequences of risk-adapted therapy for childhood medulloblastoma. *J Clin Oncol* 23:5511–5519. doi:10.1200/JCO.2005.00.703
79. Bull KS, Spoudeas HA, Yadegarfar G, Kennedy CR (2007) Reduction of health status 7 years after addition of chemotherapy to craniospinal irradiation for medulloblastoma: a follow-up study in PNET 3 trial survivors on behalf of the CCLG (formerly UKCCSG). *J Clin Oncol* 25:4239–4245. doi:10.1200/jco.2006.08.7684
80. Camara-Costa H, Resch A, Kieffer V, Lalande C, Poggi G, Kennedy C et al (2015) Neuropsychological outcome of children treated for standard risk medulloblastoma in

- the PNET4 European randomized controlled trial of hyperfractionated versus standard radiation therapy and maintenance chemotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 92:978–985. doi:10.1016/j.ijrobp.2015.04.023
81. Kennedy C, Bull K, Chevignard M, Culliford D, Dorr HG, Doz F et al (2014) Quality of survival and growth in children and young adults in the PNET4 European controlled trial of hyper-fractionated versus conventional radiation therapy for standard-risk medulloblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 88:292–300. doi: 10.1016/j.ijrobp.2013.09.046
 82. Hill RM, Kuijper S, Lindsey JC, Petrie K, Schwalbe EC, Barker K et al (2015) Combined MYC and P53 defects emerge at medulloblastoma relapse and define rapidly progressive, therapeutically targetable disease. *Cancer Cell* 27:72–84. doi: 10.1016/j.ccell.2014.11.002
 83. Morrissy AS, Garzia L, Shih DJ, Zuyderduyn S, Huang X, Skowron P et al (2016) Divergent clonal selection dominates medulloblastoma at recurrence. *Nature* 529:351–357. doi:10.1038/nature16478
 84. Packer RJ, Zhou T, Holmes E, Vezina G, Gajjar A (2012) Survival and secondary tumors in children with medulloblastoma receiving radiotherapy and adjuvant chemotherapy: results of Children’s Oncology Group trial A9961. *Neuro Oncol*. doi:10.1093/neuonc/nos267
 85. Garre ML, Cama A, Bagnasco F, Morana G, Giangaspero F, Brisigotti M et al (2009) Medulloblastoma variants: age-dependent occurrence and relation to Gorlin syndrome—a new clinical perspective. *Clin Cancer Res* 15:2463–2471. doi:10.1158/1078-0432.ccr-08-2023
 86. Kool M, Jones DT, Jager N, Northcott PA, Pugh TJ, Hovestadt V et al (2014) Genome sequencing of SHH medulloblastoma predicts genotype-related response to smoothed inhibition. *Cancer Cell* 25:393–405. doi: 10.1016/j.ccr.2014.02.004
 87. Taylor MD, Liu L, Raffel C, Hui CC, Mainprize TG, Zhang X et al (2002) Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma. *Nat Genet* 31:306–310. doi:10.1038/ng916
 88. Villani A, Tabori U, Schiffman J, Shlien A, Beyene J, Druker H et al (2011) Biochemical and imaging surveillance in germline TP53 mutation carriers with Li-Fraumeni syndrome: a prospective observational study. *Lancet Oncol* 12:559–567. doi:10.1016/s1470-2045(11)70119-x
 89. Pietsch T, Schmidt R, Remke M, Korshunov A, Hovestadt V, Jones DT et al (2014) Prognostic significance of clinical, histopathological, and molecular characteristics of medulloblastomas in the prospective HIT2000 multicenter clinical trial cohort. *Acta Neuropathol* 128:137–149. doi:10.1007/s00401-014-1276-0
 90. Schwalbe EC, Williamson D, Lindsey JC, Hamilton D, Ryan SL, Megahed H et al (2013) DNA methylation profiling of medulloblastoma allows robust subclassification and improved out-come prediction using formalin-fixed biopsies. *Acta Neuropathol* 125:359–371. doi:10.1007/s00401-012-1077-2
 91. Tamayo P, Cho Y-J, Tsherniak A, Greulich H, Ambrogio L, Schouten-Van Meeteren N et al (2011) Predicting relapse in patients with medulloblastoma by integrating evidence from clinical and genomic features. *J Clin Oncol* 29:1415–1423. doi:10.1200/JCO.2010.28.1675
 92. Remke M, Hielscher T, Northcott PA, Witt H, Ryzhova M, Wittmann A et al (2011) Adult medulloblastoma comprises three major molecular variants. *J Clin Oncol* 29:2717–2723. doi:10.1200/jco.2011.34.9373
 93. Thompson MC, Fuller C, Hogg TL, Dalton J, Finkelstein D, Lau CC et al (2006) Genomics identifies medulloblastoma subgroups that are enriched for specific genetic alterations. *J Clin Oncol* 24:1924–1931. doi:10.1200/JCO.2005.04.4974

94. Gajjar A, Chintagumpala M, Ashley D, Kellie S, Kun LE, Merchant TE et al (2006) Risk-adapted craniospinal radio-therapy followed by high-dose chemotherapy and stem-cell rescue in children with newly diagnosed medulloblastoma (St Jude Medulloblastoma-96): long-term results from a prospective, multicentre trial. *Lancet Oncol* 7:813–820. doi:10.1016/S1470-2045(06)70867-1
95. Packer RJ, Gajjar A, Vezina G, Rorke-Adams L, Burger PC, Robertson PL et al (2006) Phase III study of craniospinal radiation therapy followed by adjuvant chemotherapy for newly diagnosed average-risk medulloblastoma. *J Clin Oncol* 24:4202–4208. doi:10.1200/JCO.2006.06.4980
96. Korshunov A, Remke M, Kool M, Hielscher T, Northcott PA, Williamson D et al (2012) Biological and clinical heterogeneity of MYCN-amplified medulloblastoma. *Acta Neuropathol* 123:515–527. doi:10.1007/s00401-011-0918-8
97. Ramaswamy V, Nor C, Taylor MD (2015) p53 and Medulloblastoma. *Cold Spring Harbor Perspect Med*. doi:10.1101/cshper-spect. a026278
98. Zhukova N, Ramaswamy V, Remke M, Martin DC, Castelo-Branco P, Zhang CH et al (2014) WNT activation by lithium abrogates TP53 mutation associated radiation resistance in medulloblastoma. *Acta Neuropathol Commun* 2:174. doi:10.1186/s40478-014-0174-y
99. Ecker J, Oehme I, Mazitschek R, Korshunov A, Kool M, Hielscher T et al (2015) Targeting class I histone deacetylase 2 in MYC amplified group 3 medulloblastoma. *Acta Neuropathol Commun* 3:22. doi:10.1186/s40478-015-0201-7
100. Bandopadhyay P, Bergthold G, Nguyen B, Schubert S, Gholamin S, Tang Y et al (2014) BET bromodomain inhibition of MYC-amplified medulloblastoma. *Clin Cancer Res* 20:912–925. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-13-2281
101. Milde T, Lodrini M, Savelyeva L, Korshunov A, Kool M, Brueckner LM et al (2012) HD-MB03 is a novel Group 3 medulloblastoma model demonstrating sensitivity to histone deacetylase inhibitor treatment. *J Neurooncol* 110:335–348. doi:10.1007/s11060-012-0978-1
102. Pei Y, Liu KW, Wang J, Garancher A, Tao R, Esparza LA et al (2016) HDAC and PI3K antagonists cooperate to inhibit growth of MYC-driven medulloblastoma. *Cancer Cell* 29:311–323. doi: 10.1016/j.ccell.2016.02.011
103. Fritsch MK, Bridge JA, Schuster AE, Perlman EJ and Argani P. Performance characteristics of a reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for the detection of tumor-specific fusion transcripts from archival tissue. *Pediatric Dev Pathol* 2002; 6: 43-52.