



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

UNIDAD DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

Relación entre translocaciones cromosómicas circulantes y el estadio oncológico al momento del diagnóstico, en pacientes pediátricos con tumores de células pequeñas redondas y azules del Hospital de Pediatría de CMN Siglo XXI y Hospital Infantil de México Federico Gómez.

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR LA ESPECIALIDAD MÉDICA DE:

PEDIATRÍA CLÍNICA

PRESENTA:

ROGELIO RAMOS VELARDE

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS:

**DRA. MARTHA VERÓNICA PONCE CASTAÑEDA
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN ENFERMEDADES
INFECCIOSAS Y PASAITARIAS
HOSPITAL DE PEDIATRÍA,
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**



CIUDAD DE MÉXICO A 30 DE OCTUBRE DEL 2017.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

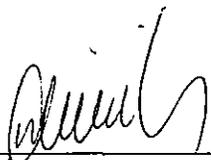
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición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

ACTA DE EXAMEN DE ESPECIALIDAD MÉDICA EN PEDIATRÍA
de
Rogelio Ramos Velarde

En la Ciudad de México a las 9.30 horas del día 8 del mes de noviembre del año 2017 reunidos en la sala de juntas, designada para tal efecto, los C. Profesores y Médicos Cirujanos del Hospital de Pediatría del CMN SXXI, fueron designados para integrar el Jurado de Examen



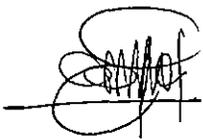
Dr. Alan Cárdenas Conejo
Sinodal



Dr. Miguel Angel Villasis Keever
Presidente



Dra. Amanda Olivares Sosa
Secretaria



Dra. Martha Verónica Ponce Castañeda
Tutora



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS

UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD

COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

COMISIÓN NACIONAL DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA

Ref. 09-B5-61-2800/0939

Marzo 16, 2007

DOCTORA MARTHA VERÓNICA PONCE CASTAÑEDA

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas
y Parasitarias, Unidad Médica de Alta Especialidad
Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI

Informo a usted que el proyecto titulado: **“Empleo de la transcripción inversa y reacción de polimerasa en cadena (RT-PCR) para precisar el diagnóstico de tumores de células pequeñas redondas y azules en niños y su valoración inicial para determinar enfermedad residual mínima”**, fue sometido nuevamente a la consideración de esta Comisión Nacional de Investigación Científica.

Los procedimientos propuestos en el protocolo cumplen con los requerimientos de las normas éticas vigentes y la carta de consentimiento informado es suficientemente explícita, por lo cual tengo el agrado de hacerle saber que con base en las opiniones de los vocales de esta Comisión, se ha emitido dictamen de **AUTORIZADO**, con número de registro: **2007-785-021**.

De acuerdo a la normatividad institucional vigente, deberá informar semestralmente a esta Comisión, acerca del desarrollo del proyecto a su cargo.

Atentamente

DOCTORA DOLORES MINO LEÓN

Secretario Ejecutivo
Comisión Nacional de Investigación Científica

Con copia:

- Doctor Carlos David González Lara, Director de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI
- Doctor Francisco Javier Torres López, Jefe de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias, Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI

DML'brs

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

“2015, Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón”

México, D.F., a 13 de octubre de 2015.

Oficio No. 09 B5 61 61 2820/2015/ 002853

Dra. Martha Verónica Ponce Castañeda

Investigador Responsable
UIM en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias
UMAE Hospital de Pediatría del
Centro Médico Nacional Siglo XXI
Presente

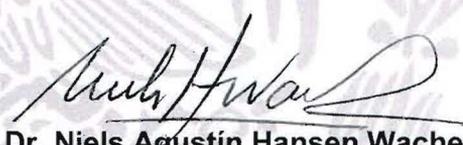
El Comité de Ética en Investigación CONBIOÉTICA09CEI01520130424 autoriza la reactivación del proyecto CNIC 2007-785-021 titulado: “Empleo de la Transcripción Inversa y Reacción de Polimerasa en Cadena (RT-PCR) Para Precisar el Diagnóstico de Tumores de Células Pequeñas Redondas y Azules en Niños y su Valoración Inicial para Determinar Enfermedad Residual Mínima”. Asimismo, se acepta la inclusión de nuevo alumno; Dr. Rogelio Ramos Velarde del programa de Posgrado: Plan Único de Especialidades Médicas de la UNAM, con sede Hospital de Pediatría, CMN SXXI.

Atentamente,



Dr. Fabio Salamanca Gómez

Representante Legal
Coordinación de Investigación en Salud
Centro Médico Nacional Siglo XXI
Registro COFEPRIS CEI: 12 CEI 09 006 14
No. Registro COFEPRIS CI: 13 CI 09 015 213
No. Registro COFEPRIS CB: 13 CB 09 015 214



Dr. Niels Agustin Hansen Wachter Rodarte

Presidente
Comité de Ética en Investigación
Coordinación de Investigación en Salud
Centro Médico Nacional Siglo XXI

Con copia:

- Dr. Hermilo de la Cruz Yañez, Director de la UMAE, Hospital de Pediatría, CMN Siglo XXI.
- Dra. Graciela Castañeda Muciño, Directora de Educación e Investigación en Salud, UMAE H.P. CMN Siglo XXI.

mb/ykgm
2006-151

Recibi original



Dra. Verónica Ponce

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	3
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
INTRODUCCIÓN	6
ANTECEDENTES	8
CÁNCER	8
TRANSICIÓN EPIDEMIOLÓGICA Y CÁNCER.	11
CÁNCER PEDIÁTRICO.....	13
TUMORES DE ESTUDIO.....	16
SARCOMA DE EWING Ó TUMOR NEUROECTODÉRMICO PRIMITIVO TNEPp.....	17
RABDOMIOSARCOMA ALVEOLAR.	20
SARCOMA SINOVIAl.....	22
MANIFESTACIONES CLÍNICAS.....	23
METÁSTASIS Y ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL.....	24
DIAGNÓSTICO INTEGRAL.....	25
ESTUDIOS CITOGENÉTICOS Y MOLECULARES.....	28
BIOLOGÍA MOLECULAR DE LAS TRANSLOCACIONES CROMOSÓMICAS.....	29
TRANSLOCACIONES CROMOSÓMICAS EN SARCOMAS.....	30
DNA, RNA Y PROTÉINAS.....	32
FUNDAMENTOS DE RT-PCR.....	32
CORRELACIÓN CLÍNICO MOLECULAR	33
JUSTIFICACION	34
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	35
HIPÓTESIS	36
OBJETIVOS	37
GENERAL.....	37
ESPECÍFICOS.....	37
MATERIAL Y MÉTODO	38
DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.	39
ANÁLISIS DE DATOS	40
CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO	40
DEFINICION DE VARIABLES	42
RESULTADOS	43
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	61
REFERENCIAS	63
ANEXO I	68

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo representa el inicio de una nueva etapa profesional. Aunque el camino fue largo y con tropiezos personales, que pusieron a prueba la perseverancia y dificultaron tocar la línea de meta, al final apareció la reflexión y con ella el empuje para concluir esta labor. El deseo de mis padres, Rogelio Ramos Villa y María Elena Velarde Navarro, de ver logrado este sueño y entendiendo que su felicidad radica en mi éxito, fue el primer impulso al iniciar la travesía de este curso de especialidad. Así mismo, el ejemplo de mi hermana Susana Ramos Velarde, dedicada y tenaz, quien siempre confió y me brindó su apoyo desde el inicio de mi formación. Posteriormente, la llegada de mis hijos, Ángel Eduardo y Sofia Valentina, apuntalan el deseo de continuar sin claudicar, recordándome con sus breves edades la convicción y el origen de mi vocación a la pediatría. Cuando en el camino las cosas se tornaron difíciles, apareció mi esposa Karla Ivette, quien siempre me dio la dosis exacta de paz, tranquilidad y equilibrio emocional que renovaron la fuerza necesaria para hacer de este sueño una realidad. Durante mi formación, las enseñanzas obtenidas de mis profesores, a quienes viviré agradecido por siempre, marcan una diferencia notoria en el desempeño profesional. Por otro lado, y sin dudarlo, al final de mi formación conocer a la Dra. Martha Verónica Ponce Castañeda, quien hizo posible la realización de este trabajo, ha dejado una huella invaluable y permanente. Admiro profundamente su dedicación, paciencia, valor ético y sobre todo su gran capacidad de transmitir el conocimiento más complejo de la manera más sencilla que se pueda entender.

Finalmente, es evidente que existe una fuerza sublime, difícil de entender y explicar. Allana el camino y te acompaña desde que inicia la vida hasta que ésta concluye. Pareciera obra de la casualidad, pero entreteje lo inexplicable que le da sentido a lo lógico. Doy gracias a esta fuerza divina que empuja y le da esperanza y fe a la vida.

RESUMEN

Las translocaciones cromosómicas son eventos genéticos recurrentes que se han identificado no solo en leucemias sino también en sarcomas, algunas son específicas para un grupo de tumores pediátricos de difícil diagnóstico clasificados como tumores de células pequeñas redondas y azules. La identificación con herramientas de la biología molecular del RNAm quimérico derivadas de estas translocaciones, son de utilidad en el diagnóstico para discriminar al Sarcoma de Ewing (SE), Rabdomiosarcoma Alveolar (RMSA) y Sarcoma Sinovial (SS) y potencialmente para identificar células tumorales circulantes. Para evaluar si la identificación de estas translocaciones en sangre periférica sirve para estadificar oncológicamente a los pacientes al momento del diagnóstico, se analizó si existen correlaciones clínico-moleculares en pacientes con estos tumores malignos atendidos en el Hospital de Pediatría (HP) del CMN SXXI del IMSS y en el Hospital Infantil de México (HIM) Federico Gómez de la Secretaría de Salud. A los pacientes en cuyos tumores se identificó la translocación, se les tomó una muestra de sangre periférica al momento del diagnóstico y se buscó ahí la translocación del tumor correspondiente. Los datos moleculares obtenidos se compararon con los datos de estadificación oncológica obtenidos de los expedientes clínicos. Se analizaron 26 pacientes de los cuales 15 se diagnosticaron como SE, 7 RMSA y 4 SS. Del total de pacientes solamente se encontró evidencia de la translocación en la sangre de 6 pacientes, 5 con SE y 1 con RMSA. De estos pacientes 2 tenían estadio I, ninguno en estadio II, 3 en estadio III y uno en estadio IV. Estos resultados indican que la identificación en sangre, de translocaciones cromosómicas específicas para los tumores en estudio no tiene relación biológica con el estadio oncológico o con la severidad de la enfermedad.

ABSTRACT

Chromosomal translocations are recurrent genetic events present in not only leukemias but also in sarcomas, some are specific for a group of mostly pediatric tumors notoriously difficult to discriminate and known as small round blue cell tumors. Identification of the quimeric mRNA with molecular biology tools is useful for diagnosis and to discriminate Ewing Sarcoma (ES), Alveolar Rhabdomyosarcoma (ARMS), and Synovial Sarcoma (SS), and potentially can also be used to identify circulating tumor cells. To evaluate if identification of these translocations in blood is useful to establish oncological stage at the time of diagnosis, we analyzed if clinical-molecular correlations exist in patients affected by these tumors treated at Hospital de Pediatría (HP) at CMN SXXI from Instituto Mexicano del Seguro Social and Hospital Infantil de México (HIM) Federico Gómez from Secretaría de Salud. In those patients harboring chromosomal translocation in their tumors, we took a blood sample and tested it for the corresponding chromosomal translocation; we then compared molecular data with the oncological stage obtained from clinical charts. We studied 26 patients, 15 were diagnosed with ES, 7 with ARMS and 4 with SS, only in 6 patients a chromosomal translocation was detected in blood at the time of diagnosis, 5 had ES and 1 ARMS. Overall, 2 patients had oncologic stage I, none had stage II, 3 had stage III and one stage IV. These results indicate that blood detection of chromosomal translocations in these tumors has no relationship with oncological stage or disease severity.

INTRODUCCIÓN

El Cáncer se define como el crecimiento descontrolado de un grupo celular que invade y destruye los tejidos sanos, con una alta capacidad de diseminación. Algunos componentes hereditarios y ambientales han sido ya indentificados como factores de riesgo que intervienen en la incidencia general de esta enfermedad. Desde el punto de vista genético, se han registrado mutaciones y translocaciones cromosómicas con la subsecuente activación o supresión de genes que regulan el crecimiento y la diferenciación celular, conduciendo al descontrol de la proliferación. El estudio del cáncer ha permitido mejorar las técnicas de diagnóstico, tratamiento y monitorización de esta entidad patológica. La comprensión de los mecanismos que subyacen en esta enfermedad han permitido el desarrollo de tratamientos que han aumentado la esperanza y la calidad de vida y ultimadamente el establecimiento de medidas preventivas para controlarlo.

La transición epidemiológica en la que se encuentra México implica un cambio de las condiciones de vida de la población, en la distribución demográfica, en la oportunidades de atención médica y esto ha sido crucial y ha impactado la incidencia de cáncer. El cáncer en la edad pediátrica como causa de mortalidad ha ganado terreno al disminuir la mortalidad debidas a enfermedades infecciosas. Aunque el cáncer pediátrico representa un pequeño porcentaje del cáncer en general, su impacto ético, social y económico son factores relevantes que motivan la profundización de su estudio. Específicamente los tumores de células pequeñas redondas y azules motivo de este trabajo, representan un reto especial ya que este grupo de neoplasias malignas predominantemente de la edad pediátrica, son morfológicamente muy similares lo que dificulta su identificación correcta, constituyendo un desafío en la patología oncológica.

La diseminación de las células a un lugar distante del sitio de origen se le llama metástasis, ocurre a través del sistema linfático o de la circulación sanguínea pero los mecanismos involucrados son complejos y poco entendidos. Un aspecto importante en el estudio de estos pacientes al momento del diagnóstico es la búsqueda de metástasis, es decir determinar si la enfermedad se encuentra localizada o si se ha esparcido a otros sitios del cuerpo, ya que de esto dependen los esquemas de tratamiento y el pronóstico.

El examen microscópico de una biopsia o de un frotis sanguíneos puede infravalorar la presencia microscópica de células tumorales ya que es posible detectar aproximadamente una célula tumoral por campo. En los últimos años se han empezado a utilizar métodos moleculares más sensibles de detección como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ya que la sensibilidad de la técnica permite la detección de una célula tumoral por cada millón de células mononucleadas en los casos en los que se cuenta con un marcador tumoral efectivo. Las translocaciones cromosómicas de neoplasias hematopoyéticas y proteínas del linaje epitelial constituyen este tipo de biomarcadores tumorales altamente específicos cuyos RNA mensajeros (RNAm) se pueden usar para detectar células tumorales circulantes y estudiar el fenómeno de las metástasis. En este contexto, el presente trabajo constituye una aproximación inicial para estudiar la relación de las translocaciones cromosómicas en sangre periférica con el estadio oncológico al momento del diagnóstico de estos pacientes, los hallazgos y resultados se comentan en las siguientes secciones.

ANTECEDENTES

CÁNCER

Este término se refiere a un grupo de enfermedades caracterizadas por masas de células que presentan un crecimiento descontrolado. Se dice que estas células son malignas porque provocan invasión y destrucción de los tejidos, ya sea de forma local o a distancia lo que se conoce como metástasis, y se diseminan por vía local, hemática o linfática. De forma general, el cáncer se divide según su origen en ambiental o genético y actualmente se considera que la mayoría de los casos se debe a una interacción de ambos factores. El cáncer se origina debido principalmente a anomalías en el material genético y al mal funcionamiento celular provocado por efecto de genes y proteínas virales. Como uno de los elementos principales del cáncer es el crecimiento descontrolado de las células, es importante mencionar que la reproducción o ciclo celular es un proceso extraordinariamente complejo que normalmente es regulado por numerosos genes. Los genes que regulan, estimulando o inhibiendo el ciclo celular, son frecuentemente los blancos del daño genético que empujan el desarrollo del cáncer. Los **proto-oncogenes** son genes encargados del crecimiento y división celular que al alterarse a través de mutaciones adquieren funciones novedosas o volviéndose más activos de lo normal. Los **genes supresores** son los responsables de controlar inhibiendo el crecimiento y división celular, las alteraciones de estos genes desencadena una división celular descontrolada promoviendo la aparición del cáncer al desaparecer su función normal, mediante la pérdida del material genético que los codifica, mediante la adquisición de mutaciones que anulan su función o mediante la anulación de su función debido a la interacción de proteínas virales que promueven la degradación de las proteínas correspondientes. Los genes reparadores del DNA, tienen como función reparar las secuencias de DNA dañado, las mutaciones en estos genes

tienden a producir mutaciones adicionales en otros genes las cuales al interactuar entre sí pueden causar cambios en las células hacia un fenotipo maligno. Así se puede decir que las alteraciones genéticas hereditarias o adquiridas y que la interacción a nivel genético de ciertos virus conducen al desarrollo de cáncer¹. Existen varios sistemas de clasificación del cáncer. Un sistema de clasificación de los tumores común y muy útil, se deriva del tipo de capa embrionaria de donde se deriva la célula que origina el tumor.

Carcinomas.

Este tipo de tumores se deriva de las células epiteliales, es el tipo de cáncer más frecuente en adultos. Las células que originan estos tumores provienen del ecto y endodermo en general recubren las superficies internas y externas del cuerpo y de los órganos. Los adenocarcinomas se originan de células epiteliales que producen glándulas; los más frecuentes son el de mama, colon y próstata. Otro ejemplo, son los carcinomas de células basales o de células escamosas, de estos los más frecuentes son el cáncer de estómago, intestino, pulmones, vejiga y riñones. Los carcinomas también se originan en los límites de tejidos en transición donde se encuentran los epitelios de transición por ejemplo del urotelio, del cérvix, del estómago etc.

Sarcomas.

Derivados del tejido mesenquimatoso y del tejido conectivo, son tumores que se originan en el tejido óseo, tejidos blandos como el músculo, tejido adiposo, vasos sanguíneos, vasos linfáticos y en tejido fibroso o conectivo y se trata de tejidos procedentes del mesodermo. El osteosarcoma es el cáncer más común de hueso y los tipos más comunes de sarcoma en adultos son el leiomiomasarcoma, sarcoma de Kaposi, histiocitoma fibroso maligno, liposarcoma y dermatofibrosarcoma protuberante.

Leucemias y linfomas.

Derivados del sistema hematopoyético las leucemias se originan en tejidos que forman la sangre en la médula ósea. Los linfomas se originan en vasos y ganglios linfáticos y forman tumores sólidos. En las leucemias un gran número de glóbulos blancos anormales se acumulan en la sangre y la médula ósea desplazando a las células normales. Los linfomas se originan a partir de linfocitos T o B.

Tumores del sistema nervioso central.

Este tipo de tumores se pueden originar de las células gliales, células endoteliales o plexos coroidales, de las neuronas, del tejido conectivo, del tejido glandular o de las células de Schwann.

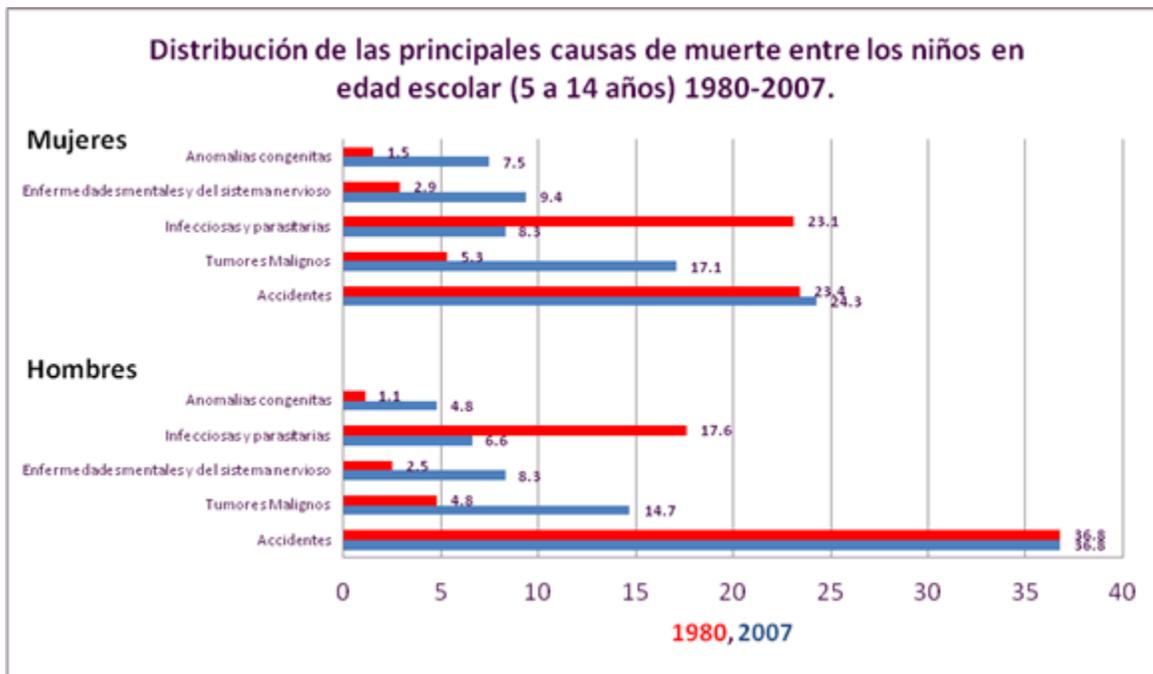
El problema del cáncer es en general un problema global y tiene un impacto social y económico gradualmente mayor debido al envejecimiento poblacional. Se estima en un estudio de la OMS que en el 2012 surgieron 14 millones nuevos casos de cáncer a nivel mundial.² Se estima que el 90% de casos de cáncer tiene un origen ambiental y sólo el 10% es de carácter hereditario. Entre los factores ambientales más importantes implicados en el cáncer se encuentran el uso de tabaco³, ciertos hábitos de alimentación, las infecciones oncogénicas que son causadas por infecciones virales como hepatitis o papiloma virus⁴, radiación ionizante y no ionizante. Existen, algunos tipos de tumores malignos relacionados a la ocupación⁵. Se estima también que aproximadamente el 0.3% de la población general es portadora de alguna mutación genética que tiene efecto sobre el riesgo de cáncer⁶. Uno de los ejemplos clásicos son

los genes BRCA1 y BRCA2 cuyas mutaciones incrementan un 75% el riesgo de desarrollar cáncer de mama y de ovario ⁶.

TRANSICIÓN EPIDEMIOLÓGICA Y CÁNCER.

México se encuentra en una transición epidemiológica debida principalmente a la disminución de la natalidad durante los últimos 45 años. Este efecto demográfico, aunado al relativo desarrollo económico y el incremento de la cobertura de los servicios de salud ha provocado un cambio en los grupos etarios que requieren servicios de salud. La transición epidemiológica presenta un rumbo definido de acuerdo con tres características fundamentales. La primera de ellas es el tipo de enfermedades que están predominando, se observa un cambio en la tendencia de enfermedades infecciosas a enfermedades crónicas degenerativas, principalmente el cáncer. La segunda directriz está relacionada con el cambio de los grupos de edades que requieren atención médica observándose un incremento en la atención a los adultos y adultos mayores y una disminución de la atención a la edad pediátrica. Estas tendencias también se reflejan en los índices de mortalidad de acuerdo a los grupos de edad en la población. La tercera directriz de cambio derivada de las condiciones de salud de la población se refiere al énfasis en la morbilidad más que en la mortalidad observada en los indicadores de salud ^{7,8}. En el tipo de transición epidemiológica en nuestro país, destacan la superposición de etapas y la transición prolongada ⁸, esto trae como consecuencia un incremento en el número de casos nuevos de cáncer; sin embargo, las causas de mortalidad varían según el tipo de comunidad, área geográfica y clases sociales ⁹.

Es importante señalar que las enfermedades infecciosas han disminuido de forma importante, y el cáncer en la edad pediátrica está ganando terreno dentro de las causas de muerte en esta etapa de la vida ¹⁰. La mortalidad secundaria a causas de tipo infeccioso ha disminuido, no así el caso de tumores malignos que ha registrado un incremento importante ¹¹. Lo anterior se puede observar en el trabajo de CONAPO Titulado “Principales causas de mortalidad en México 1980 -2007”. Documento de trabajo para la XLIII (Periodo de Sesiones de la Comisión de Población y Desarrollo) “Salud, morbilidad, mortalidad y desarrollo” posición del sector gubernamental en Nueva York, 12 a 16 de Abril del 2010.



CÁNCER PEDIÁTRICO.

A pesar que las neoplasias en los menores de 15 años sólo representan entre el 1 y 5% del total de las neoplasias en la población con cáncer, existen razones médicas, éticas, sociales y económicas muy importantes que justifican su investigación. En 1990 la mortalidad por cáncer en la población derechohabiente del Instituto Mexicano del Seguro social (IMSS) ocupó el décimo lugar en el grupo de menores de un año, el quinto lugar en el de 1 a 4 años y el primero en el grupo de 5 a 14 años ¹². Se desconoce la etiología de la mayoría de los tumores malignos en el niño, pero existe suficiente conocimiento para señalar que la interacción entre los genes y las exposiciones ambientales como los derivados de benceno, los pesticidas, y la exposición directa o durante la gestación a otros agentes físicos, químicos e infecciosos pueden ser causantes de neoplasias en la población infantil. Esto es relevante porque significa que el cáncer en el niño es susceptible de prevención. Es importante mencionar también que la sobrevida actual a cinco años se ha incrementado.

Hay importantes diferencias entre las neoplasias de los niños y los adultos¹³. En los menores de 15 años, el 92% son de tipo no epitelial y el 8% de tipo epitelial, en cambio en los adultos esta relación está invertida predominando los tumores de origen epitelial. Tomando estos aspectos biológicos del cáncer pediátrico en cuenta, en 1987 la OMS estableció una clasificación de uso epidemiológico para agrupar las diferentes neoplasias en los niños y facilitar su registro¹³.

Por lo tanto, las neoplasias en los niños se agrupan en 12 grandes grupos:

- I. Leucemias.
- II. Linfomas y otras neoplasias reticuloendoteliales.
- III. Tumores del sistema nervioso central.
- IV. Tumores del sistema nervioso simpático.
- V. Retinoblastoma.
- VI. Tumores renales.
- VII. Tumores hepáticos.
- VIII. Tumores óseos.
- IX. Tumores de los tejidos blandos.
- X. Tumores de células germinales, trofoblásticas y otras neoplasias gonadales.
- XI. Carcinomas y otras neoplasias epiteliales malignas.
- XII. Otras neoplasias malignas inespecíficas.

Los registros de cáncer como de cualquier otra enfermedad son una herramienta muy útil para conocer la dimensión del problema a nivel poblacional, sin embargo, no existen registros sistemáticos y confiables en todos los países. La incidencia mundial de cáncer en los niños se encuentra entre 100 a 150 por cada 100 000^{14,12}. En general tanto la frecuencia como la incidencia son mayores para las leucemias¹². La incidencia es mayor en menores de 5 años y con predominio para el género femenino^{12,14}, la incidencia para EUA asciende a 137 en blancos y 121 en negros¹³, en Inglaterra 109¹⁴, Francia 137¹⁵, Italia 141¹⁴, Dinamarca 138¹⁶. Respecto a

países latinoamericanos y en vías de desarrollo se notificaron incidencias de 45^{17,18} de esto último se infiere que hay un importante subregistro de los casos de cáncer. La incidencia mundial por edad es mayor en menores de 5 años, disminuye en el grupo de 5 a 9 años e incrementa en el grupo de 10 a 14 años. El patrón de presentación varía según la edad, así bien, en menores de 1 año predominan tumores embrionarios; en pacientes de 1 a 4 años predominan la leucemia linfoblástica aguda; en el grupo de 5 a 9 años predominan las leucemias y los linfomas e inicia la presentación de tumores óseos; por último en pacientes de 10 a 14 años predominan la leucemias pero aumentan los linfomas y tumores óseos¹⁹. En términos generales, se puede mencionar que la frecuencia de las neoplasias pediátricas difiere según el país, sin embargo, en términos generales se observa un predominio de las leucemias, las cuales representan entre el 30 y el 40% de todas las neoplasias, de estas últimas las leucemias linfoblásticas agudas son la más frecuentes y alcanzan el 75% de todos los casos. En un estudio se encontraron tres patrones de presentación que varían en función del tipo de cáncer, país o región¹³. Los tres patrones se denominaron 1) Estadounidense/europeo, 2) Latinoamericano y 3) Africano. En el primero, hay mayor incidencia de leucemia y tumores de sistema nervioso central, en el latinoamericano predomina leucemias y linfomas, en el africano son los linfomas¹³. La incidencia de neoplasias malignas en los niños no presenta una tendencia clara al incremento, pero algunos informes demuestran que si ha incrementado, por ejemplo en EUA se menciona incremento de 1% entre 1974 y 1991, en Inglaterra incremento para el periodo de 1954 a 1988, en Dinamarca de 1943 a 1984 y en Alemania de 1980 a 1990¹².

Las cifras de mortalidad son muy útiles ya que ayudan a estimar la dimensión del problema y a diseñar programas de atención médica. Sin embargo, no es posible inferir la incidencia a partir de la mortalidad, debido a que el tratamiento de los niños con cáncer ha mejorado en forma importante y ha aumentado la sobrevivencia, por lo tanto, la mortalidad no es

necesariamente reflejo de la incidencia. La mortalidad en países desarrollados por neoplasias malignas ha disminuido. La mortalidad más baja se ha registrado en EUA con tasa de 30 por 100 000 y en países europeos de 50. En países latinoamericanos sin embargo, la mortalidad no muestra una tendencia a la disminución y las tasas son mayores que en los países desarrollados, aunque semejantes a los de los países del este de Europa.

Los estudios enfocados a conocer la epidemiología descriptiva de los niños con cáncer en nuestro país se iniciaron en el IMSS con el estudio de los niños atendidos en la Ciudad de México. Desde 1996 en el Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, se realiza y se mantiene un registro prospectivo de los nuevos casos que ofrece datos valiosos sobre el tamaño, y las tendencias de este grave problema pediátrico.

TUMORES DE ESTUDIO.

Tumores de Células Pequeñas Redondas y Azules.

Los tumores de células pequeñas redondas y azules es el nombre histopatológico que agrupa a un número de neoplasias altamente malignas que ocurren predominantemente en la edad pediátrica. Su nombre deriva del aspecto primitivo o embrionario altamente celular de núcleos azul oscuro y con escaso citoplasma con la tinción de hematoxilina-eosina. En el caso de los sarcomas que presentan esta morfología, frecuentemente se trata de células que carecen de marcadores de diferenciación que permitan su identificación específica y esto constituye un desafío de la patología oncológica pediátrica. En el grupo de sarcomas objeto de este trabajo de tesis se incluyen rhabdomyosarcoma alveolar (RMSA), tumor neuroectodérmico primitivo o sarcoma de Ewing (SE) y sarcoma sinovial (SS). Estos tumores se encuentran en los grupos epidemiológicos VIII y IX, es decir tumores óseos y tumores de los tejidos blandos

respectivamente de la Clasificación Internacional para los tumores pediátricos. En los datos epidemiológicos del IMSS estos grupos de tumores presentan una frecuencia general del 6.2 y 6.8 %. No existen aún datos sobre tasas de incidencia para categorías diagnósticas dentro de estos grupos, y las tasas de mortalidad son la aproximación más cercana con que se cuenta en el país para estimar la dimensión del problema. Se tiene registrada una tasa de mortalidad del 2.72 en menores de 15 años derechohabientes del IMSS de 1990 a 1994 ¹².

SARCOMA DE EWING Ó TUMOR NEUROECTODÉRMICO PRIMITIVO TNEPp.

El sarcoma de Ewing ó tumor neuroectodérmico primitivo periférico (TNEPp) incluye un grupo heterogéneo de neoplasias formadas por células redondas de pequeño tamaño, con localización anatómica preferente en hueso y en partes blandas, es uno de los tumores malignos más indiferenciados. Estas células se derivan de la cresta neural y presenta manifestaciones clínicas muy variadas y siempre muy malignas. En 1921 James Ewing comunicó a la New York Society of Pathology sus observaciones sobre 7 casos de sarcomas no osteogénicos del hueso diagnosticados en pacientes jóvenes y de ahí su nombre. En 1979 Askin reportó la existencia de un grupo de neoplasias indiferenciadas formadas por células redondas de localización toraco-pulmonar, presentes también en niños y jóvenes; algunos con origen en las costillas, aunque en otras ocasiones con origen en partes blandas que posteriormente infiltraban hueso, por la persona que los describió a este grupo de tumores se le conoce también como tumor de Askin. A nivel microscópico se trata de cúmulos de abundantes células muy indiferenciadas, pequeñas y con muy poco citoplasma ver figuras 1 y 2. El componente neuroectodérmico se evidenció con la identificación ultra estructural de la presencia de granulaciones neurosecretoras²⁰ y también con base en la detección de marcadores neurales

mediante estudios inmunohistoquímicos en una gran proporción de estos tumores. En 1983 Aurias y colaboradores²¹, reportaron una translocación genética balanceada t(11;22)(q24;q12) presente tanto en la mayoría de TNEPp como en la mayoría de tumores de Askin, esto abrió una nueva perspectiva conceptual y diagnóstica para este grupo de sarcomas, ya que ahora se les considera un grupo de tumores relacionados y estas translocaciones han ayudado mucho tanto en el diagnóstico como en la comprensión de la fisiopatología de estos tumores. Actualmente, se considera que es un grupo o familia de tumores con un espectro fenotípico neuroectodérmico y alteraciones genotípicas similares. Sin embargo, su morfología indiferenciada y la localización en hueso, en partes blandas, así como en diversos territorios orgánicos, hacen de este grupo de sarcomas un reto tanto para el morfológico como para el oncólogo clínico, no resuelto del todo en la actualidad. Se conoce muy poco acerca de los factores etiológicos relacionados con estos tumores. Hay tendencia a producirse en gente joven durante la fase de mayor crecimiento y en los huesos largos, correspondiendo con el periodo de mayor crecimiento esquelético. Es infrecuente en niños menores de 4 años y presenta una distribución por sexos de 1:1 (masculino/femenino).

Se distinguen varias formas de presentación, la más frecuente es en hueso, seguida de partes blanda, en riñón, cavidad abdominal, área torácica pulmonar, columna vertebral, piso pélvico y sistema nervioso central. Referidos a hueso se pueden distinguir dos grandes grupos que tienen significado pronóstico: aquellos que se localizan en las extremidades: fémur, tibia, peroné, huesos del pie o de la mano; y los presentes en el tronco y cabeza/cuello, pelvis, costillas, región torácica, vértebras, etc. Los primeros tienen, en líneas generales, mejor pronóstico que los últimos.

Debido a que la mayoría de los casos de este grupo de tumores tienen la translocación cromosómica que se involucra el gen EWSR1 ubicado en cromosoma 22q12 hoy en día este

grupo de tumores se considera una gama o espectro del mismo tumor con diferentes grados de diferenciación, encontrándose el sarcoma de Ewing en un extremo y el tumor neuroectodérmico primitivo en el otro extremo. La translocación que involucra los cromosomas 11 y 22 se encuentra en casi todos los casos sin embargo se han descubierto variantes, y no es extraño que los perfiles inmunohistoquímicos sean aberrantes, estos aspectos y excepciones contribuyen a la dificultad del diagnóstico morfológico.

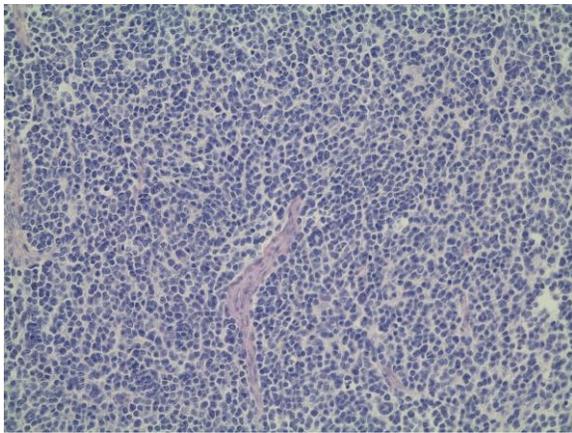


Figura 1. Sarcoma de Ewing en corte
microscópico teñido con Hematoxilina y
Eosina a 20X

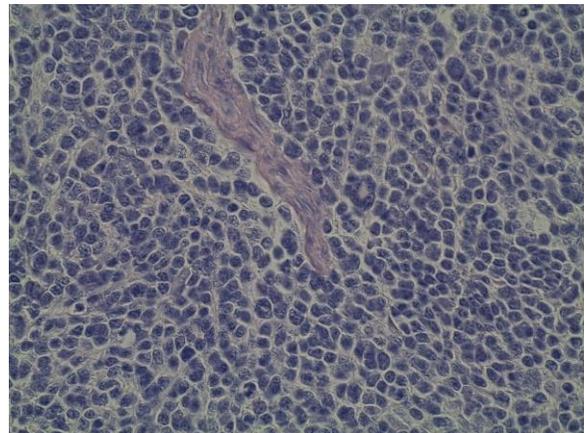


Figura 2. Sarcoma de Ewing 40X

RABDOMIOSARCOMA ALVEOLAR.

Los rhabdomiosarcomas son sarcomas de partes blandas en los que es posible encontrar evidencia morfológica, inmunohistoquímica ó ultraestructural de diferenciación a músculo esquelético. El rhabdomiosarcoma alveolar (RMSA) es un sarcoma agresivo que representa aproximadamente el 31% de todos los rhabdomiosarcomas, y es el 2º en frecuencia después del rhabdomiosarcoma embrionario. Clínicamente se considera un tumor maligno de niños y adolescentes, aunque tiende a presentarse en un grupo de mayor edad que los rhabdomiosarcomas embrionarios con un pico de incidencia entre 10-25 años. Se presenta frecuentemente en partes blandas de las extremidades, aunque también se puede localizar en cabeza, cuello, región perineal, región para-espinal y senos paranasales. La localización en mama es una localización rara, que se ha descrito en la literatura tanto como localización primaria como metastásica. Otras localizaciones metastásicas, son los ganglios linfáticos, pulmón y otras vísceras. La infiltración difusa en la médula ósea puede plantear diagnóstico diferencial con leucemias. En cortes de hematoxilina y eosina se caracteriza por cúmulos de células separadas por haces de matriz extracelular que evocan las estructuras alveolares de los pulmones y de ahí su nombre, ver figuras 3 y 4, sin embargo no siempre se encuentran estos componentes y el desafío para distinguirlo de SE ha empujado a la búsqueda y descubrimiento de marcadores inmunohistoquímicos que los distinguen.

El fenotipo inmunohistoquímico de estos tumores se caracteriza por la expresión de diferentes proteínas indicadores de compromiso hacia el linaje muscular. Las tinciones relacionadas con el gene Myo-D1 muestran un patrón de expresión difusa nuclear fuerte, sin embargo en algunos casos no es posible encontrar estas evidencias y de ahí la dificultad en la discriminación con otros tumores de células pequeñas redondas y azules. Los estudios

citogenéticos en este tumor durante los últimos 30 años han mostrado de forma recurrente y específica la presencia de translocaciones cromosómicas en el RMSA que involucran los cromosomas 2 y 3. La detección de esta anomalía cromosómica mediante el análisis del ARNm quimérico permite apoyar el diagnóstico diferencial de este tumor con otros rabdomiosarcomas y con otros tumores de células redondas y pequeñas. La alteración más frecuente, que se observa aproximadamente en un 70-85% de los casos, es la translocación $t(2;13)(q35;q14)$, la cual yuxtapone el gen PAX3 del cromosoma 2 con el gen FOX2 del cromosoma 13, ambos genes son reguladores de la expresión de otros genes.

Dentro de los factores pronósticos dentro de los rabdomiosarcomas en general, los más útiles son: el grado de extensión de la enfermedad al diagnóstico, localización del tumor primario y tipo histológico siendo el alveolar el que presenta peor pronóstico.

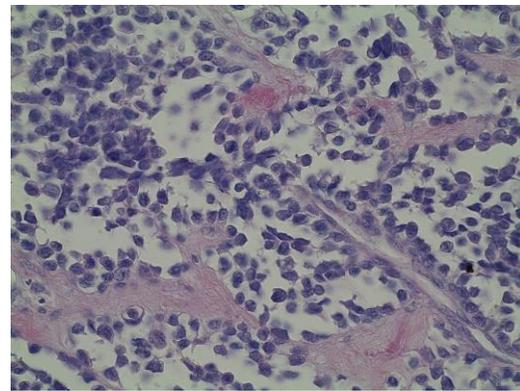
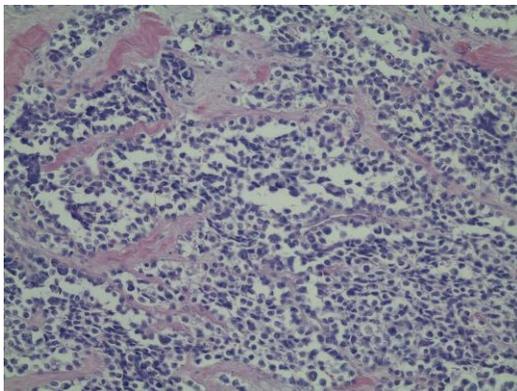


Figura 3. Rabdomiosarcoma Alveolar en corte microscópico teñido con Hematoxilina y Eosina 20X

Figura 4. Rabdomiosarcoma Alveolar 40X

SARCOMA SINOVIAL

El sarcoma sinovial (SS) no es el más frecuente en los adolescentes y adultos jóvenes. El pico de incidencia está en la 3ª década, aproximadamente el 30% de los casos ocurren en pacientes de menos de veinte años de edad, y los hombres son más afectados que las mujeres (razón masculina / femenina alrededor de 2:1). A pesar de su nombre, el sarcoma sinovial no surge a partir de tejido sinovial, sin embargo frecuentemente se encuentran muy cerca de las bolsas sinoviales de tendones y de ahí su nombre. Como con la mayoría de los sarcomas de tejidos blandos, la patogénesis del SS es todavía desconocida y no están bien establecidos los factores de riesgo. Los SS pueden surgir en cualquier lugar de las partes blandas del cuerpo. La presentación clínica más frecuente es una masa de lento crecimiento en los tejidos blandos de las extremidades inferiores, especialmente alrededor de la rodilla y el tobillo, y el tumor está a menudo cerca de un tendón o bursa. La presentación en otros lugares como cabeza y cuello, pared abdominal, retroperitoneo, mediastino, pleura, riñones, pulmones y otros órganos son menos comunes. Varios son los síntomas que pueden estar relacionados con este tumor, aunque la masa indolora sigue siendo la presentación más frecuente. Dificultad en la deglución y la respiración, o la alteración de la voz, por ejemplo, pueden asociarse con el SS de la región de cabeza y cuello. El dolor puede estar relacionado con la compresión de los nervios por la masa tumoral. Debido a que el tumor crece lentamente, los síntomas pueden estar presentes durante largo tiempo lo que puede retrasar el diagnóstico. El pronóstico de los pacientes con SS se relaciona con la viabilidad de la resección quirúrgica, el tamaño del tumor, y la invasión. Los pacientes con tumores pequeños que se pueden eliminar completamente al inicio del tratamiento y tienen un pronóstico excelente. Para los pacientes con metástasis a distancia, el pronóstico en general es pobre.

A nivel genético, el SS se caracteriza también por una translocación cromosómica recurrente y específica que involucra el los cromosomas X y 18 $t(X;18) (p11, q11)$. En la última clasificación de la OMS sobre tumores óseos y de tejidos blandos, el SS está clasificado entre los tumores malignos de diferenciación incierta, carente de contrapartida de tejido normal²². A nivel histológico los SS pueden presentarse como mono o bifásicos. Los monofásicos o los indiferenciados constituyen el reto diagnóstico ya que resulta difícil distinguirlo de otros tumores de células pequeñas redondas y azules.

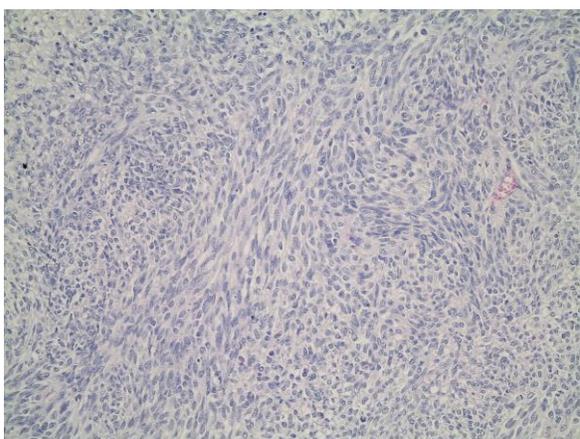


Figura 5. Sarcoma Sinovial en corte
microscópico teñido con Hematoxilina y
Eosina 20X

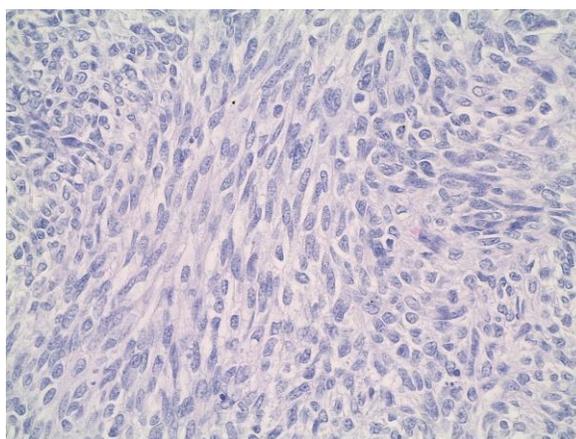


Figura 6. Sarcoma Sinovial 40X

MANIFESTACIONES CLÍNICAS.

Desde el punto de vista clínico estos tumores se manifiestan como masas y deformaciones anatómicas, distensión de la cavidad que lo contiene, dolor, compresión de estructuras vasculares, medulares o mediastinales o por efecto de las metástasis. Es frecuente la presencia de signos inflamatorios que persisten a pesar del tratamiento anti inflamatorio. Los

síntomas atribuibles a este tipo de tumores suelen estar presentes varios meses antes de que se llegue al diagnóstico. Suelen producir fiebre y afectación al estado general. La localización es lo que determina las características clínicas y los síntomas descritos por los pacientes. Los localizados en el SNC suelen manifestar signos de hipertensión endocraneana como cefalea y vómito, signos cerebelosos, convulsiones o cambios en la conducta. Los tumores localizados en cabeza y cuello suelen estar relacionados con obstrucción de la vía aérea superior como ronquidos anormales, respiración oral, voz nasal, halitosis, con presencia de secreciones anormales por las fosas nasales, conducto auditivo externo o boca. En el tórax, los cuadros clínicos asociados a tumores tiene carácter sindromático determinado por la compresión de las estructuras del mediastino, en especial la tráquea y el esófago originan tos, disnea, cianosis, sibilancias, disfonía o disfagia. En ocasiones el primer signo de la enfermedad es una fractura patológica.

METÁSTASIS Y ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL

El término metástasis desde el punto de vista oncológico alude a la diseminación o propagación de células cancerosas a otro lugar diferente al sitio original o primario. La vía de diseminación depende de la estirpe de la célula maligna sin embargo en general ocurre por vía sanguínea o linfática en la mayoría de los casos. Al diseminarse las células forman un nuevo tumor distante o secundario a la localización inicial. La migración metastásica comienza con la ruptura de los límites naturales del tejido, fenómeno que se denomina invasión local y posteriormente ocurre la extravasación que es la entrada de las células tumorales en la circulación sanguínea o linfática del organismo, el fenómeno metastásico implica también la salida de la circulación hacia el sitio de desarrollo metastásico. La enfermedad mínima residual se define como la presencia de células o masas tumorales que no se pueden detectar por

metodologías de imagenología convencionales y que por lo tanto requiere de técnicas microscópicas o moleculares para su detección²³. Aproximadamente el 25% de los pacientes afectados por estos tumores tienen metástasis frecuentemente a pulmón y detectables al momento del diagnóstico.

DIAGNÓSTICO INTEGRAL

El diagnóstico del cáncer está basado como la mayoría de las enfermedades en la integración de los datos de la historia clínica, el examen físico, los hallazgos de laboratorio, de gabinete y sobre todo en el análisis morfológico de una biopsia de la masa tumoral. El diagnóstico histopatológico de estos tumores se realiza a través del examen microscópico de una muestra de tejido tumoral. Es de suma importancia mencionar que el abordaje diagnóstico debe de comenzar con microscopia de luz convencional en el contexto de la historia clínica completa. Cuando la morfología plantea un desafío diferencial entre estas tres entidades tumorales, se emplean técnicas de inmunotinción ya que con estas es posible identificar la presencia de proteínas asociadas a miogénesis, a neurogénesis o a otros procesos biológicos asociados al proceso maligno.

➤ Inmunohistoquímica.

La técnica inmunohistoquímica se fundamenta en la reacción Antígeno – Anticuerpo, el anticuerpo es el reactivo fundamental que permiten marcar antígenos celulares y tisulares, generalmente proteínas. La reacción antígeno anticuerpo en la técnica de inmunohistoquímica es incolora y para hacerla evidente, se utilizan sistemas de amplificación y revelado que involucra el empleo de anticuerpos secundarios acoplados a enzimas y sustratos, que al reaccionar precipitan creando sustancias cromogénicas visibles en el microscopio de luz. Los

marcadores inmunohistoquímicos se caracterizan por tener una buena sensibilidad, sin embargo, la especificidad tiende a no ser tan buena.

➤ **Marcadores Miogénicos.**

Estos marcadores son útiles en el diagnóstico de rhabdomyosarcoma alveolar; sin embargo, este tumor expresa de forma variable varios marcadores miogénicos como desmina, actina músculo específico, actina sarcomérica, miosina, mioglobina etc. La utilidad diagnóstica de estos marcadores se ve disminuida por el hecho de que a excepción de la actina músculo específico, muchos de estos marcadores son poco sensibles o no se encuentran en el tumor. El marcador más importante para el marcaje de diferenciación hacia fibras de músculo estriado, es la miogenina ver figura 7; producto del gen MYF4 y la cual es una proteína involucrada en las fases tempranas de la diferenciación hacia músculo estriado.

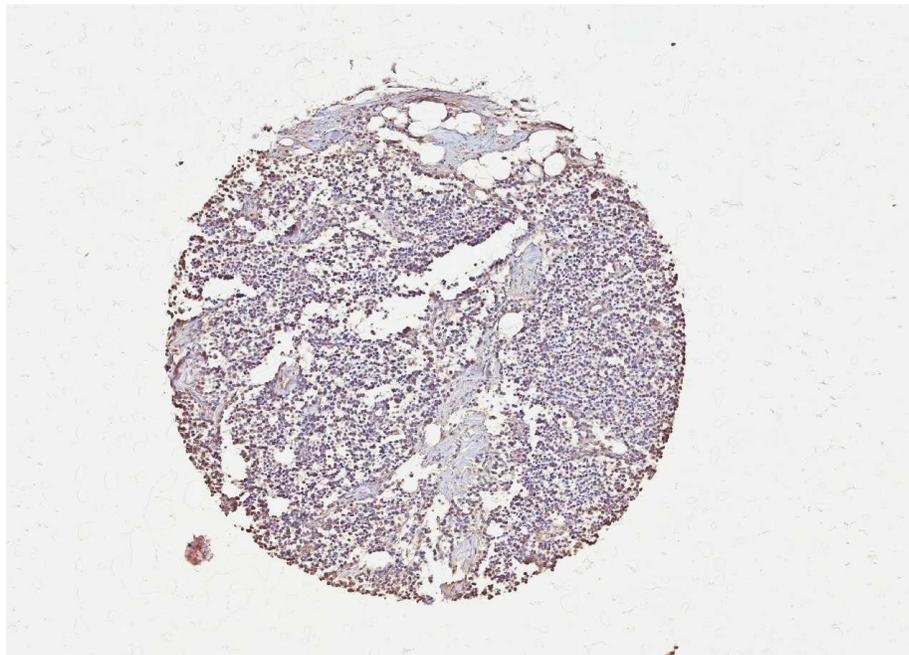


Figura 7. Tinción por inmunohistoquímica de RMSA usando anticuerpo contra miogenina, el color café-ocre indica la presencia de miogenina. Amplificación 5X

➤ **Marcadores Epiteliales.**

La demostración inmunohistoquímica de diferenciación epitelial se ha establecido y es importante en el diagnóstico del SS poco diferenciado ver figura 8. Es importante mencionar que los anticuerpos anti-citoqueratinas no se expresan en más del 50% de los SS poco diferenciados y que la citoqueratina de alto peso molecular es más sensible que la de bajo peso molecular para estos objetivos.

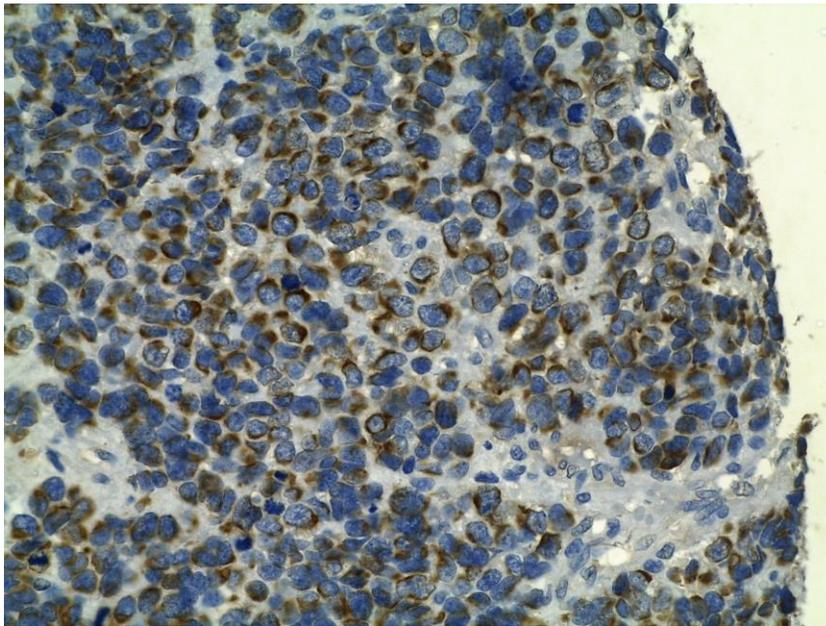


Figura 8. Tinción por inmunohistoquímica de SS usando anticuerpo contra citoqueratina.

Amplificación 40X.

➤ **Marcadores Neuroectodérmicos.**

Se han utilizado para identificar SE y TNEP, el marcador de diferenciación neuronal más sensible es la enolasa neuronal que tiende a ser positivo en la mayoría de casos de TNEP figura 9, aunque la especificidad ha probado ser baja en estos casos. El CD99 representa otro marcador útil en la discriminación de este tumor, es una glicoproteína de superficie codificada por el gen MIC2 este se expresa preferentemente en los tumores que pertenecen al grupo SE y TNEP; sin

embargo, es importante mencionar que no es específico ya que las neoplasias que pueden expresar CD99 son muchas.

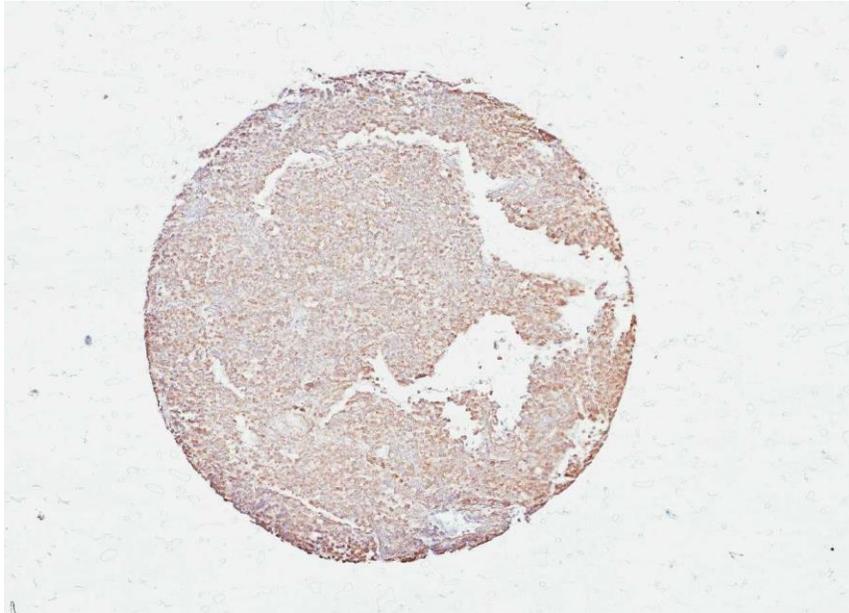


Figura 9. Sarcoma de Ewing marcado por inmunohistoquímica con Enolasa amplificación 5X.

ESTUDIOS CITOGENÉTICOS Y MOLECULARES

Aunque se pensaba que las translocaciones cromosómicas eran eventos o accidentes genéticos que ocurrían exclusivamente en tumores de la estirpe hematopoyética, la acumulación de estudios citogenéticos de tumores sólidos han demostrado la presencia de translocaciones no aleatorias; es decir recurrentes en sarcomas tanto de adultos como pediátricos. Los estudios moleculares de estas translocaciones cromosómicas han revelado que cada translocación corresponde a una fusión distintiva de genes asociada a cada categoría de sarcomas. Estas translocaciones representan la alteración genética con más relevancia desde el punto de vista clínico, ya que pueden usarse como marcadores moleculares de las células

tumorales susceptibles de ser usados para apoyar el diagnóstico histopatológico y potencialmente para rastrear la presencia de células tumorales usando pruebas moleculares basadas en la reacción de polimerasa en cadena que tienen alta sensibilidad al ser posible detectar cantidades minúsculas de moléculas de ARNm. En la actualidad se han caracterizado a nivel molecular las translocaciones recurrentes en 12 categorías de sarcomas, y entre estas 12 entidades se encuentran los tres tumores pediátricos de células redondas, pequeñas y azules, que son objeto de estudio en esta tesis y que han sido mencionados previamente.

BIOLOGÍA MOLECULAR DE LAS TRANSLOCACIONES CROMOSÓMICAS

Desde el punto de vista molecular estas translocaciones interrumpen genes que se encuentran en los puntos de ruptura de los cromosomas involucrados, y la yuxtaposición de las porciones cromosómicas involucradas produce genes quiméricos como se ilustra en la figura 10. Esta nueva configuración genética frecuentemente involucra segmentos intrónicos de DNA, y cuyo tamaño varía en el rango de miles de pares de bases²⁴. Por esta razón, resulta muy difícil usar solamente la reacción de polimerasa en cadena (PCR) para detectar las translocaciones a partir de DNA genómico. Sin embargo estas nuevas configuraciones genéticas, generan proteínas quiméricas con propiedades funcionales alteradas²⁵, generalmente involucrando factores de transcripción que son proteínas reguladoras de la expresión de otros genes²⁶. Debido a que estos genes quiméricos son transcripcionalmente activos y los intrones son eliminados durante el proceso de transcripción acortando el tamaño del ARNm, es posible identificar los puntos de fusión en el ARNm quimérico. Entonces estas translocaciones cromosómicas han sido caracterizadas e identificadas por técnicas moleculares usando la RT-PCR es decir la transcripción inversa haciendo copias de DNA a partir de ARNm y acoplando la reacción de polimerasa en cadena a partir del DNAc de las muestras tumorales²⁷.

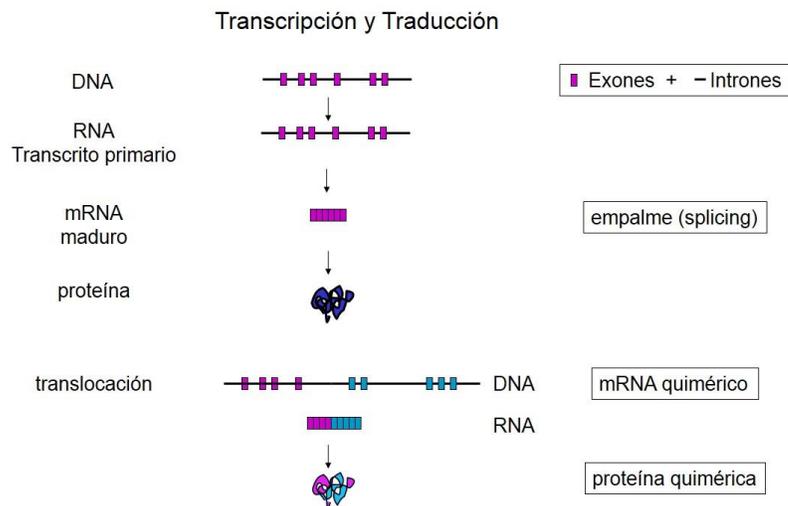


Figura 10. Fundamentos genéticos y moleculares de las translocaciones cromosómicas.

TRANSLOCACIONES CROMOSÓMICAS EN SARCOMAS

El rhabdomyosarcoma (RMS) es el sarcoma de partes blandas más común en la infancia. Los dos subtipos histológicos principales en los que se subdivide el RMS son el alveolar (RMSA) y el embrionario (RMSE). Para el subtipo embrionario no se han descrito hasta el momento translocaciones específicas. En el subtipo alveolar se han descrito las translocaciones $t(2;13)(q35; q14)$ en aproximadamente un 55% de casos y $t(1; 13)(p36; q14)$ en un 22% de los casos. Estas translocaciones involucran los genes PAX3 y PAX7, localizados en los cromosomas 2 y 1, respectivamente. Se cree que esta disregulación conlleva una alteración biológica muy importante con efectos sobre los mecanismos moleculares que controlan la proliferación, la apoptosis, la diferenciación y la movilidad. Está aceptado que el subtipo embrionario tiene mejor pronóstico que el alveolar, por eso la importancia de su correcta identificación.

Sarcoma de Ewing (SE)/Tumor neuroectodérmico primitivo periférico (PNET).

Característicamente, los tumores de esta familia albergan la translocación t(11;22) (q24;q22) que yuxtapone el gen EWSR1 con FLI1 (presente en aproximadamente un 85% de casos). También se detecta la translocación EWSR1-ERG (en alrededor del 9-14% de los casos). Un pequeño porcentaje de tumores (entre el 1 y el 5%) presenta también otras translocaciones entre EWSR1 y otros genes relacionados estructuralmente con FLI (EWSR1-ETV1, EWSR1-ETV4 y EWSR1-FEV). Diversos hallazgos apuntan que la presencia de la translocación basta para provocar la transformación oncogénica.

Sarcoma sinovial.

Los genes asociados al punto de ruptura son SYT, en el cromosoma 18 y los genes SSX situados en el cromosoma X, SSX1 t(X;18) (p11.2; q11.2), SSX2 t(X;18) (p11.2;q11.2) y muy raramente SSX4 (X;18) (p11.2;q13). Las tres translocaciones son específicas del SS. La translocación se ha descrito en las células fusiformes características de este tumor, así como en su componente epitelial. La presencia de translocaciones entre SYT y los genes SSX en prácticamente todos los casos de sarcoma sinovial sugieren que el producto de la translocación tiene un papel central en la oncogenicidad de las células que componen este tumor. El gen SYT, también conocido como SS18, parece ser un gen expresado de forma ubicua y la proteína por la que codifica parece tener una función en el remodelado de la cromatina, así como en la activación transcripcional a través de su interacción con el complejo desacetilador de histonas y represores transcripcionales.

DNA, RNA Y PROTEÍNAS

En el núcleo celular se encuentra la información genética. Esta información se encuentra codificada en secuencias de bases de las moléculas de DNA que son macromoléculas poliméricas organizadas de manera lineal en 23 pares de cromosomas en el caso del genoma humano. La transferencia de información del núcleo al citoplasma ocurre a través del proceso de la transcripción que involucra RNA que es químicamente similar al DNA, excepto por contener uracilo y que en contraste con el DNA que es una doble cadena, el RNA está formado por una cadena sencilla. La información “exportada” del núcleo al citoplasma se convierte en aminoácidos a través del proceso de traducción que involucra la síntesis de proteínas a partir de RNA. Las enzimas involucradas en estos procesos se emplean como herramientas de la biología molecular, por ejemplo la DNA polimerasa es central en la reacción de PCR para amplificar cantidades pequeñas de DNA, o la transcriptasa reversa (que usan los virus de RNA) hace copias de DNA (cDNA) a partir de moldes de RNA. El entendimiento de estos conceptos ha permitido conocer a nivel molecular los fundamentos fisiopatológicos de muchas enfermedades incluyendo el cáncer. Las translocaciones cromosómicas, su funcionamiento y el potencial uso de estas marcas genéticas en cáncer es una área activa de investigación.

FUNDAMENTOS DE RT-PCR

Se trata de una combinación de PCR acoplada a otra reacción enzimática previa que consiste en sintetizar DNA a partir de RNA con la enzima viral retrotranscriptasa o transcriptasa reversa. El DNA producido por esta enzima se usa como molde en la PCR. Esta estrategia experimental permite aprovechar la sensibilidad de la PCR para detectar RNA mensajeros previamente

convertidos en DNA lo que constituye el fundamento de la detección de las translocaciones cromosómicas en los tejidos tumorales objeto de estudio de esta tesis.

CORRELACIÓN CLÍNICO MOLECULAR

La importancia de correlacionar los datos moleculares es decir la detección de las translocaciones mediante RT-PCR con los datos clínicos, tiene objetivos y utilidad importantes. En primer lugar, la detección de estas translocaciones en el tejido tumoral, puede apoyar a establecer el diagnóstico de certeza en aquellos tumores que es imposible determinar su estirpe oncológica mediante morfología e inmunohistoquímica; en segundo lugar las correlaciones clínicas permiten establecer el posible uso de estas determinaciones como biomarcadores moleculares de rastreo de células malignas en sangre. Esto tiene el potencial de impactar positivamente en la sobrevida de los pacientes portadores de este tipo de tumores. Este trabajo se enmarca dentro de estas exploraciones y tiene la intención de usar las estadificaciones clínicas, como evidencias médicas que puedan orientar y revelar el significado y con esto la utilidad de la identificación de translocaciones circulantes en sangre al momento del diagnóstico de estos pacientes.

JUSTIFICACION

Entre los tumores de células pequeñas redondas y azules se encuentran el sarcoma de Ewing, tumor neuroectodérmico primitivo, rabdomiosarcoma alveolar y sarcoma sinovial que comparten características morfológicas, por lo que su diagnóstico debe ser precisado por estudios de inmunohistoquímica. La descripción de translocaciones recurrentes, específicas y transcripcionalmente activas en este grupo de tumores, ha abierto una oportunidad para precisar mediante el análisis de RNA de estos tumores con RT-PCR el diagnóstico morfológico. Además ofrecen la oportunidad de explorar el empleo de esta herramienta molecular en la estadificación oncológica y en el rastreo de células tumorales circulantes. En esta tesis se propuso explorar si esta herramienta molecular es útil para apoyar la estadificación oncológica al momento de la presentación y diagnóstico.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

No se conoce cuál es el significado biológico o clínico de la identificación de translocaciones cromosómicas en sangre periférica de estos pacientes al momento de la presentación y el diagnóstico.

HIPÓTESIS

En un subgrupo de pacientes con los diagnósticos mencionados, encontraremos la translocación identificada en el tumor primario y en sangre periférica y los hallazgos en sangre se correlacionarán con el estadio oncológico asignado al momento del diagnóstico.

OBJETIVOS

General

Correlacionar hallazgos moleculares en la sangre periférica de los pacientes reclutados con la estadificación clínico-oncológica de los pacientes reclutados.

Específicos

- a. Revisar los expedientes de los pacientes reclutados para extraer los estadíos oncológicos asignados al momento del diagnóstico.
- b. Analizar y describir las características del grupo reclutado, diagnóstico histopatológico, edad, género, localización anatomía del tumor y estadio oncológico al momento del diagnóstico.
- c. Correlacionar los hallazgos moleculares (detección de translocaciones) en sangre periférica con el estadio oncológico correspondiente.

MATERIAL Y MÉTODO

Se tomaron muestras de sangre periférica previas a tratamiento de pacientes con sospecha de tumor de células pequeñas redondas y azules. Se utilizaron muestras de tejido de la biopsia diagnóstica para la identificación de translocaciones cromosómicas específicas. Se obtuvieron los datos clínicos de los archivos hospitalarios, del Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional Siglo XXI (HP) y del Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIM). Se incluyeron los siguientes datos para la descripción del grupo edad, género, tipo de tumor, localización anatómica, diagnóstico histopatológico, diagnóstico molecular y estadio oncológico.

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO Y TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Este estudio formó parte de un esfuerzo colaborativo inter-institucional, como parte de un protocolo de casos semejantes que se llevó a cabo entre el Hospital de Pediatría del CMN SXXI, IMSS, y el Hospital Infantil de México Federico Gómez. Se estudiaron prospectivamente los casos de niños diagnosticados con sarcoma sumando la casuística de ambos hospitales durante 4 años del 2008 al 2013, para evaluar la utilidad de detectar células tumorales circulantes con RT-PCR de translocaciones cromosómicas específicas. Los niños que se estudiaron prospectivamente se capturaron en el momento en que se diagnosticaron con “probable sarcoma” por miembros de los departamentos de Oncología y/o Cirugía de ambos hospitales e implicó la toma de 4 muestras de sangre a lo largo del primer año de atención en estos hospitales, es decir una cada 4 meses. Esta tesis se limita al análisis de los resultados moleculares de la primera de estas 4 muestras. En el momento de incorporarlos al estudio, se tomó una muestra inicial de sangre periférica de 4 cc, que se fraccionó. Los componentes celulares se lisaron en una solución caotrópica (reactivo trizol) para conservar las moléculas de RNAm y se mantuvieron a -70° C para su procesamiento posterior. A partir de la biopsia diagnóstica o una muestra tumoral de tejido tumoral fresco, se procedió a la extracción del RNA total y al ensayo de RT-PCR para identificar la translocación más frecuentemente reportada para cada tumor. Para Sarcoma de Ewing se buscó la translocación de los cromosomas 11 y 22 $t(11;22)(q24;q12)$; para el Rabdomiosarcoma Alveolar se buscaron las translocación de los cromosomas 2 y 13, $t(2;13)(p36;q14)$ y $t(1;13)(q35;q14)$; para el Sarcoma Sinovial se buscaron la translocación de los cromosomas X y 18 $t(x;18)(p11.23;q11)$.

Una vez identificada la translocación en el tumor primario, se procedió a ensayar la reacción correspondiente en la muestra de sangre. Se incluyeron en este estudio solo los casos en que fue posible identificar alguna translocación cromosómica en el tumor.

Los padres de los niños participantes fueron informados sobre este estudio e invitados a participar a través de una carta de consentimiento informado de la cual ellos conservaron una copia, en el caso de niños a partir de 6 años se obtuvo su asentimiento.

Tanto el manejo de las muestras como los análisis moleculares para documentar las translocaciones fueron realizados en coordinación con la Dra. M. Verónica Ponce y la Dra. Pilar Eguía del Hospital Infantil de México. La recopilación de los datos clínicos y las correlaciones con los hallazgos moleculares, fueron realizadas como parte de esta tesis de especialidad en colaboración con los médicos oncólogos y patólogos adscritos de ambos hospitales. Los datos clínicos relevantes se capturaron en una base de datos diseñada y mantenida por la Dra. Verónica Ponce.

ANÁLISIS DE DATOS

Los datos moleculares generados a partir de los tejidos coleccionados, fueron analizados para determinar la asociación entre presencia o ausencia de transcritos quiméricos en sangre periférica y diversos parámetros clínicos como diagnóstico, estadio clínico del tumor al momento de la presentación, edad al momento del diagnóstico, género y localización del tumor.

CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO

Las determinaciones moleculares se llevaron a cabo en el laboratorio de Biología Molecular de la UIMEIP, del Hospital de Pediatría del CMN SXXI, o en el Servicio de Patología del Hospital Infantil de México. La identificación de los casos se llevó a cabo en los Servicios de Cirugía y de Oncología de los Hospitales correspondientes. La toma de tejido tumoral en fresco se realizó después de la cirugía del tumor en el departamento de Patología cuando la cantidad de tejido lo permitió y la tarea estuvo a cargo del personal médico de esos Servicios.

La búsqueda de los datos clínicos se llevó a cabo en los archivos clínicos de los hospitales y a través de los datos contenidos en el expediente electrónico del Hospital de Pediatría del IMSS.

Tipo de estudio: Prospectivo, longitudinal y descriptivo

Población objetivo: Niños atendidos en el Hospital de Pediatría del CMN SXXI y en el Hospital Infantil de México Federico Gómez con diagnóstico de probable sarcoma.

Criterios de selección

Criterios de Inclusión: Niños y niñas menores de 18 años con sospecha diagnóstica de sarcoma de Ewing, tumor neuroectodérmico primitivo periférico, rhabdomyosarcoma alveolar o sarcoma sinovial, que se presentaron en los Servicios de Oncología tanto del Hospital de Pediatría del CMN SXXI como del Hospital Infantil de México, Federico Gómez.

Criterios de Exclusión: Casos en los que no se obtuvo RNA útil a partir del tumor primario.

Casos en los que no fue posible obtener muestras de sangre.

Criterios de Eliminación: Pacientes cuyos padres o tutores no autorizaron su participación en el protocolo.

DEFINICION DE VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES: Tipo de translocación presente en cada tumor analizado y posteriormente la detección de la translocación específica en muestras de sangre periférica.

ESCALA DE MEDICIÓN: Cualitativa.

CATEGORÍA: Presencia o ausencia de la translocación cromosómica correspondiente a cada categoría diagnóstica y cada tejido analizado.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO: En algunos casos no fue posible contar con tejido tumoral suficiente para realizar los ensayos enzimáticos.

RESULTADOS

En total se reclutaron 31 pacientes y se incluyeron en este trabajo solo los 26 pacientes diagnosticados con alguno de los siguientes tumores de tejidos blandos Sarcoma de Ewing, RMSA o SS, y en los que se identificó alguna de las translocaciones cromosómicas específica para estos tumores. Catorce pacientes se reclutaron en el Hospital de Pediatría de Centro Médico Nacional SXXI del IMSS (HP) y doce pacientes se reclutaron en el Hospital Infantil de México (HIM). A todos estos pacientes se les tomó muestra de sangre periférica poco tiempo después del diagnóstico histopatológico para detectar translocaciones cromosómicas específicas en la sangre, sin embargo solo en 12 pacientes fue posible obtener la primera muestra sanguínea antes de iniciar la quimioterapia, por lo que los análisis de correlación se hicieron solo con los datos de estos 12 pacientes.

De los 26 paciente 16 corresponden a varones y 10 a mujeres. En ambas instituciones se observa mayor número de varones como se aprecia en la figura 11.

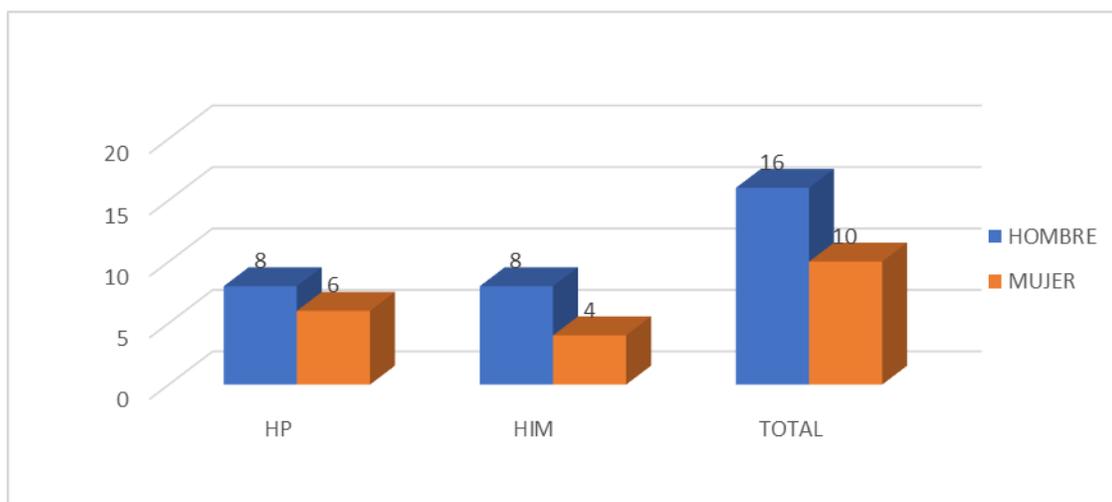


Figura 11. Distribución de casos reclutados por género, por institución y totales.

En los pacientes sujetos de estudio de acuerdo con la edad se observaron más casos en el grupo de mayores de 12 años en ambas instituciones. La distribución por edad por institución es similar a la distribución total de los pacientes como se aprecia en la figura 12.

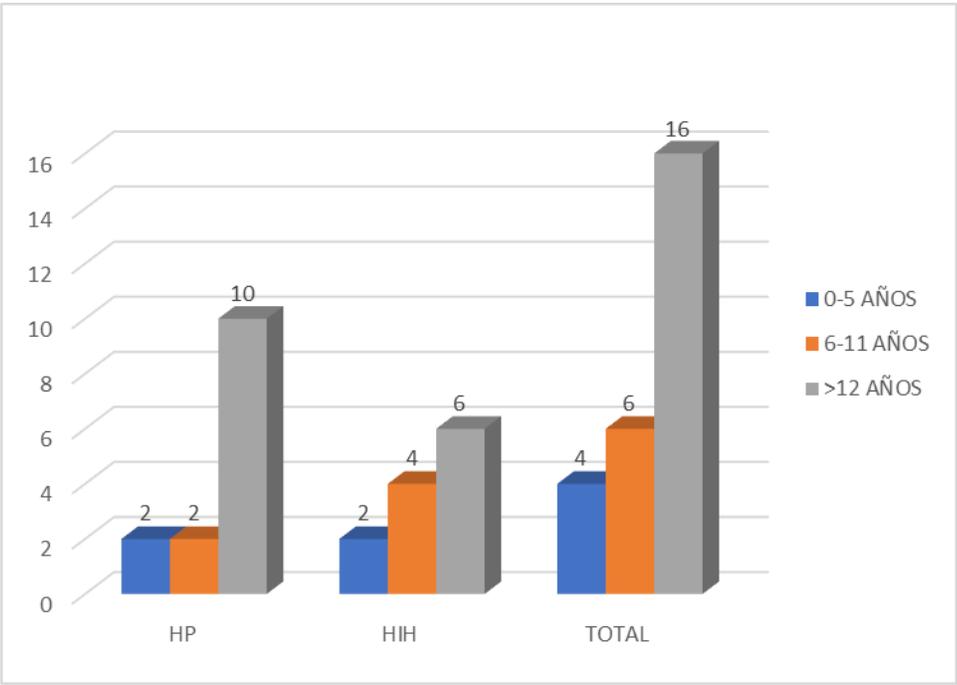


Figura 12. Distribución de los casos estudiados de acuerdo al grupo de edad y por hospital.

Respecto al tipo de tumor de manera general en ambas instituciones se observó la misma distribución; es decir, más pacientes con sarcoma de Ewing, seguidos de rabdomiosarcoma alveolar y por último sarcoma sinovial. Esta distribución también corresponde con las frecuencias reportadas internacionalmente para estos tumores, ver figura 13.

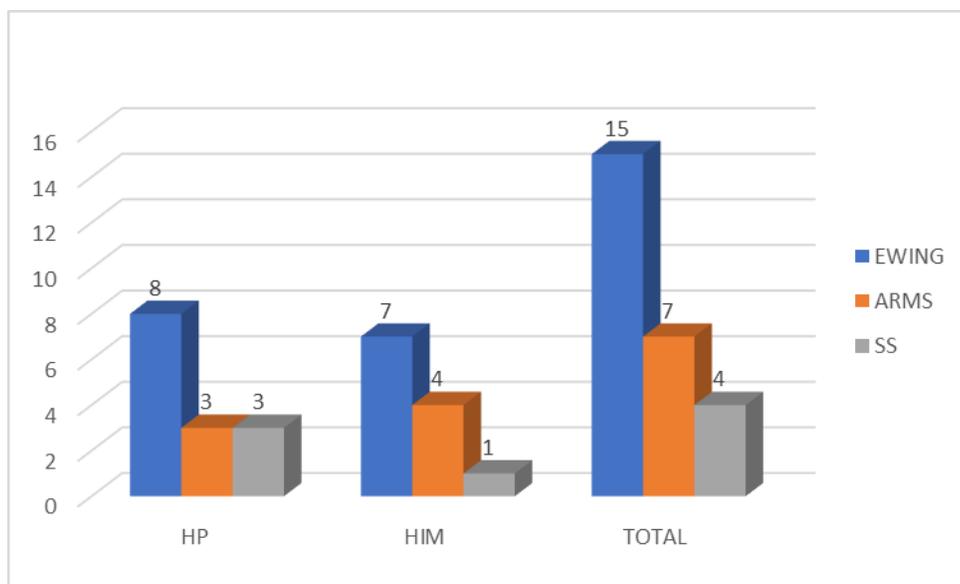


Figura 13. Distribución de las categorías diagnósticas estudiadas y disgregadas por hospital.

Para la determinación del estadio oncológico se utiliza la escala TNM (Tumor, Nódulo, Metástasis), escala de estratificación creada y usada de manera global por la American Joint Committee on Cancer (AJCC). Lo anterior se basa en la evaluación de la extensión del tumor primario a través de ganglios linfáticos y la presencia de metástasis. En términos muy generales el estadio I se refiere a la descripción, tamaño, localización y grado de invasión local del tumor; el estadio II al grado de invasión local; el estadio III describe los ganglios linfáticos cercanos como invadidos por células tumorales y estadio IV presencia de metástasis o tumores inoperables. El mayor número de pacientes se diagnosticaron en el estadio III, los datos se observan en la figura 14.

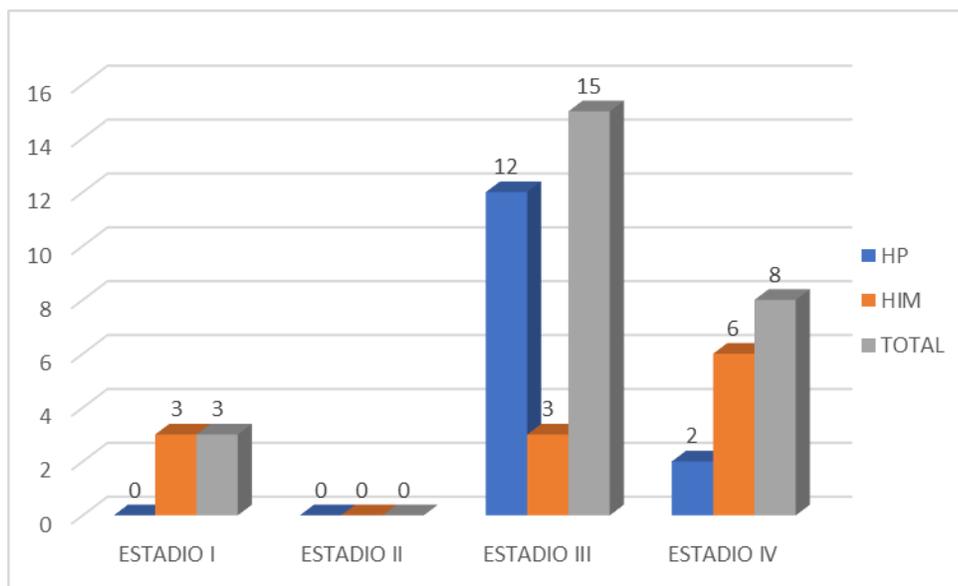


Figura I4. Estadificación oncológica TNM general de los casos estudiados al momento del diagnóstico disgregados por hospital.

La localización anatómica tumoral global más frecuente fue en extremidades y cabeza; en 3 pacientes fue imposible determinar la localización primaria ya que al momento del diagnóstico la localización tumoral era múltiple ver figura 15.

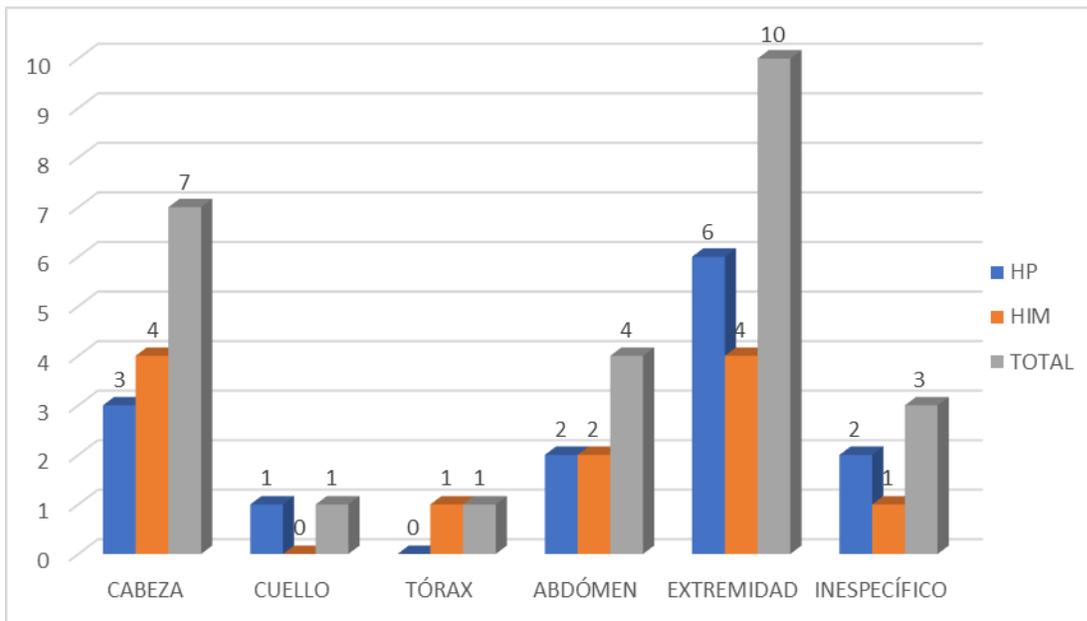


Figura 15. Localización anatómica al momento del diagnóstico de los tumores en los casos analizados disgregados por hospital.

SARCOMA DE EWING

Como se puede apreciar en la figura 16 en los casos de Sarcoma de Ewing se observó predominio en varones en ambas instituciones.

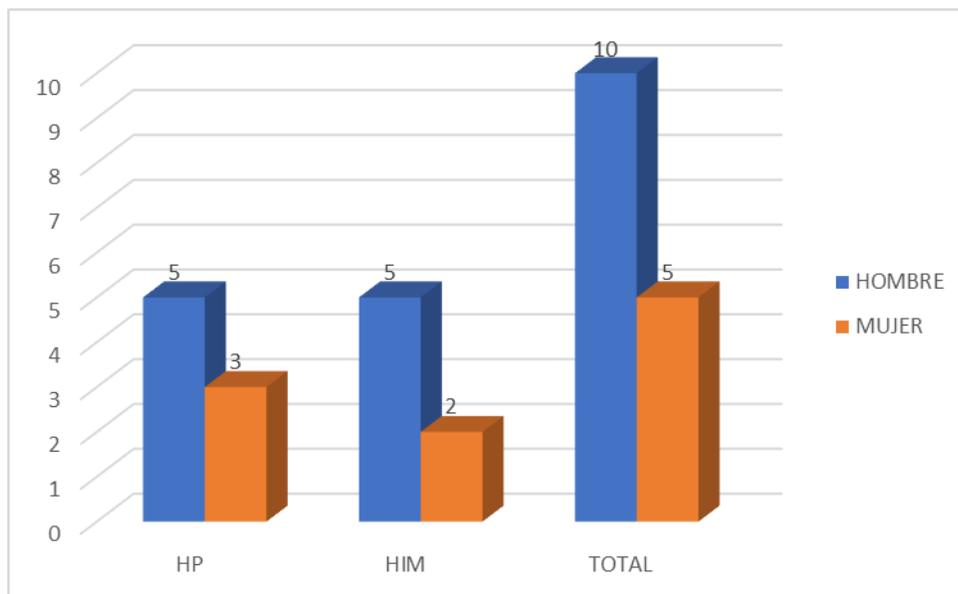


Figura 16. Distribución por género de los casos de Sarcoma de Ewing totales disgregados por hospital.

En Sarcoma de Ewing el grupo de edad con mayor número de casos fue en mayores de 12 años lo cual corresponde a lo reportado en la literatura figura 17.

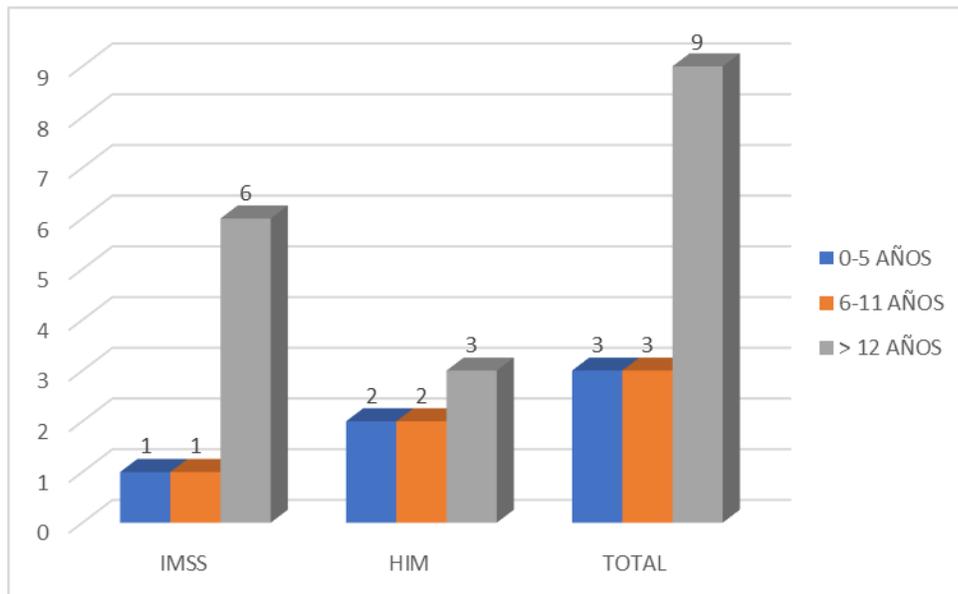


Figura 17. Distribución de casos con Sarcoma de Ewing por grupos de edad disgregados por hospital.

En los pacientes estudiados con Sarcoma de Ewing, el estadio III representó el mayor número de casos al momento del diagnóstico, figura 18.

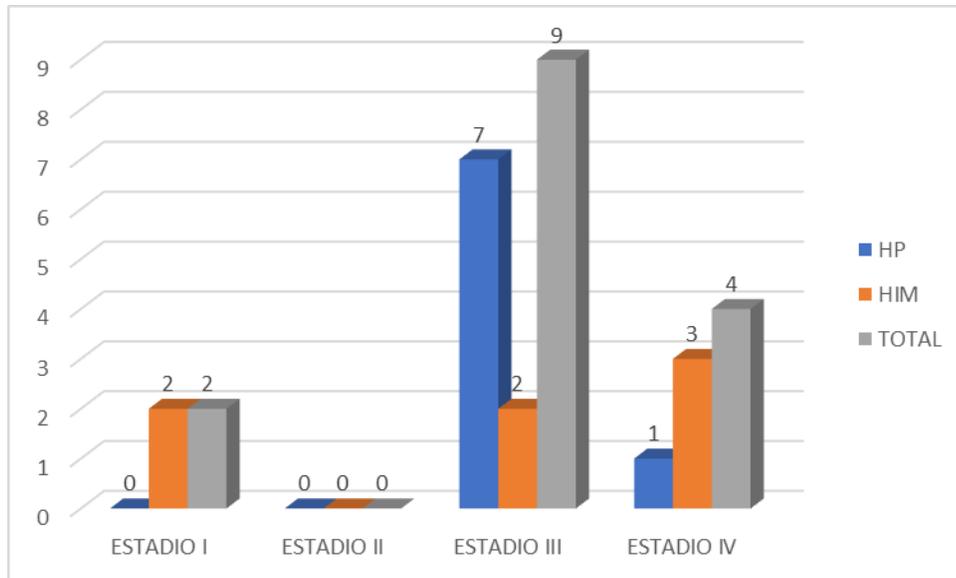


Figura 18. Distribución de estadios oncológicos de sarcoma de Ewing en el sistema TNM disgregados por hospital.

La localización anatómica al momento del diagnóstico en Sarcoma de Ewing fue predominantemente en extremidades figura 19.

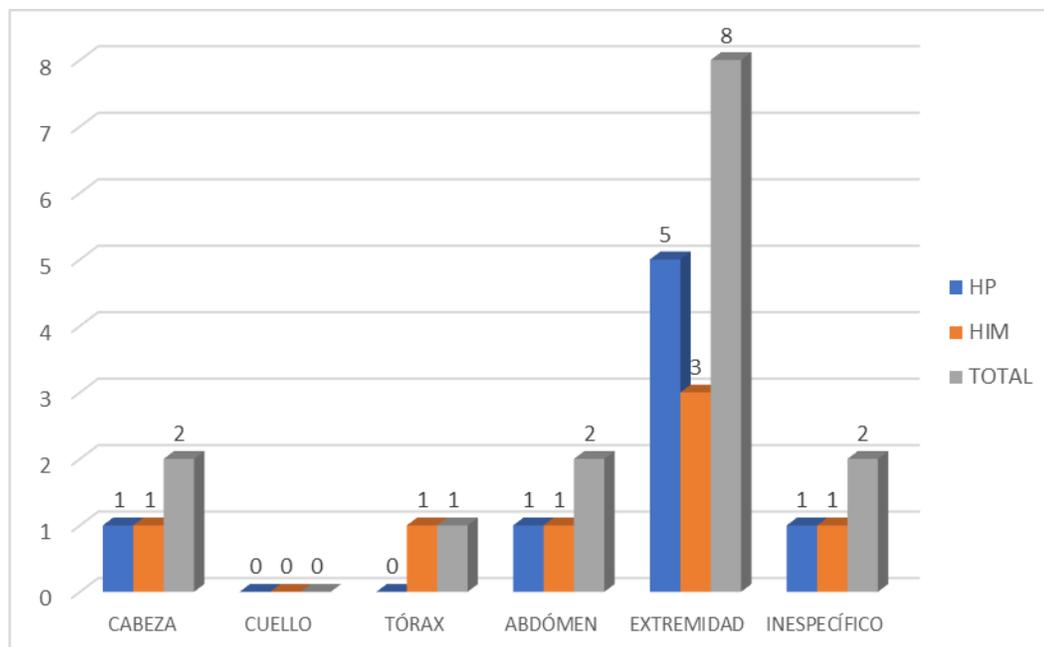


Figura 19. Distribución de la localización anatómica de los casos diagnosticados con sarcoma de Ewing disgregados por hospital.

RMSA

El Rabdomiosarcoma Alveolar es el segundo tipo de tumor de tejido blandos más frecuente de los pacientes de este estudio, con un total de 7 pacientes con ligero predominio de varones en este estudio como se ve en la figura 20.

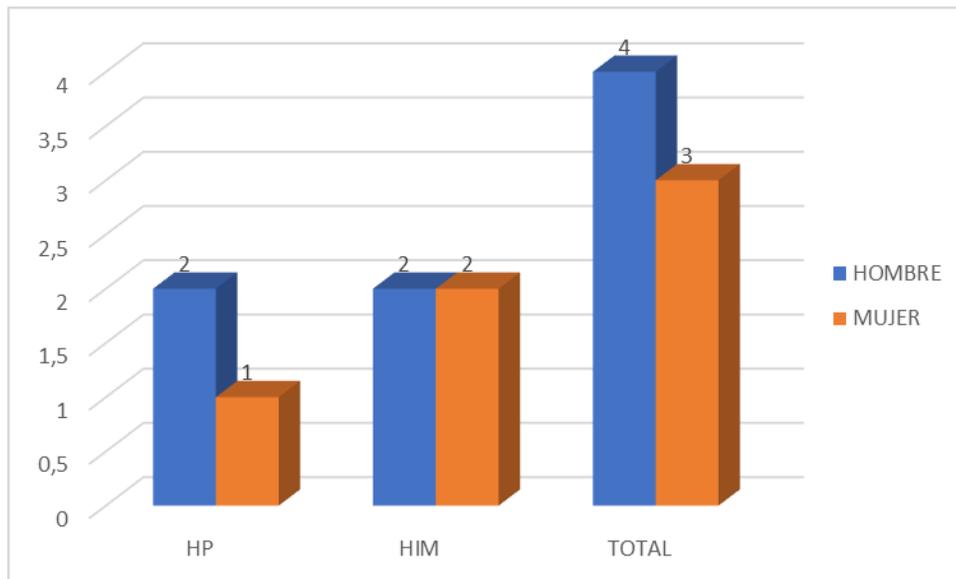


Figura 20. Distribución por género de los casos diagnosticados con rabdomiosarcoma alveolar, disgregados por hospital.

En la distribución por grupos de edad de rabdomiosarcoma alveolar no se observa una agrupación franca y esto es muy probable que se deba a que el grupo es demasiado pequeño como se observa en la tabla 1.

CASOS DE RMSA POR EDAD

	HP	HIM	TOTAL
0-5 AÑOS	1	0	1
6-11 AÑOS	1	2	3
>12 AÑOS	1	2	3

Tabla 1

La estadificación oncológica de los pacientes con Rabdomiosarcoma alveolar muestra mayor número de casos en estadio III y estadio IV. La localización anatómica más frecuente se observa en cabeza. Los datos anteriores y su distribución específica por institución se muestran en las tablas 2 y 3.

CASOS DE RMSA POR ESTADIO

ONCOLÓGICO

	HP	HIM	TOTAL
ESTADIO I	0	0	0
ESTADIO II	0	0	0
ESTADIO III	3	1	4
ESTADIO IV	0	3	3

Tabla 2

CASOS DE RMSA POR LOCALIZACIÓN

	HP	HIM	TOTAL
CABEZA	2	2	4
CUELLO	0	0	0
TÓRAX	0	0	0
ABDOMEN	0	1	1
EXTREMIDAD	0	1	1
INESPECÍFICO	1	0	1

Tabla 3

SARCOMA SINOVIAL

El sarcoma sinovial fue el tumor con menor frecuencia en este estudio, 4 pacientes son el número total de casos entre las dos instituciones sin predominio de género (**Tabla 4**). Los cuatro casos pertenecen al grupo de mayores de 12 años de edad (**Tabla 5**), con estadios oncológicos distribuidos en etapas tempranas y avanzadas (**Tabla 6**), la localización anatómica predominante no se puede establecer por el número reducido de pacientes (**Tabla 6**).

CASOS DE SS POR GÉNERO

	HP	HIM	TOTAL
HOMBRE	1	1	2
MUJER	2	0	2

Tabla 4

CASOS DE SS POR EDAD

	HP	HIM	TOTAL
0-5 AÑOS	0	0	0
6-11 AÑOS	0	0	0
>12 AÑOS	3	1	4

Tabla 5

CASOS DE SS POR ESTADIO

	HP	HIM	TOTAL
ESTADIO I	0	1	1
ESTADIO II	0	0	0
ESTADIO III	2	0	2
ESTADIO IV	1	0	1

Tabla 6

CASOS DE SS POR LOCALIZACIÓN

	HP	HIM	TOTAL
CABEZA	0	1	1
CUELLO	1	0	1
TÓRAX	0	0	0
ABDOMEN	1	0	1
EXTREMIDAD	1	0	1
INESPECÍFICO	0	0	0

Tabla 7

RESULTADOS MOLECULARES.

Como se mencionó con anterioridad a los pacientes incluidos en este estudio se les identificó translocación cromosómica específica para cada tipo de tumor presentado. Sólo en 12 pacientes fue posible la toma de muestra de sangre periférica antes del inicio del tratamiento con quimioterapia para la identificación de translocación cromosómica específica en sangre, mediante técnica RT-PCR a la cual se le denominó **MO** (Muestra cero). La muestra de sangre posterior al inicio de quimioterapia se denominó **MI** (Muestra 1) Los resultados de RT-PCR se expresaron como positivos al identificar la translocación y negativos al no ser detectada dicha translocación denominándose **MO+** y **MO-** respectivamente. Así mismo la identificación de translocación en muestras de sangre posterior a la quimioterapia se denominó **MI+**. De los 12 pacientes con muestra de sangre previa a la quimioterapia, 6 fueron **MO+**; 5 son varones y una mujer, de ellos 5 pertenecen al HIM y 1 al HP como se aprecia en la **tabla 8**. En los casos **MO+** no se observó una distribución específica por edad como se observa en la **tabla 9**, encontrando casos **MO+** en los 3 grupos de edad. Respecto a la distribución anatómica de los tumores **MO+**, tres de los 6 pacientes se originaron en extremidades que corresponde a la localización más frecuente de Sarcoma de Ewing como se observa en la **tabla 10**. De los casos **MO+**, 5 corresponden a Sarcoma de Ewing, y 1 a rhabdomyosarcoma alveolar como se ve en la **tabla 11**. De manera sobresaliente y para efectos del objetivo principal de este trabajo, en la **tabla 11** se muestra que no se encontró relación **MO+** con el estadio oncológico ya que se encontraron casos **MO+** en estadios I, III y IV con mayor número de casos en estadio III. En la misma tabla se describen los resultados de **MO** y **MI** por estadio oncológico y por diagnóstico de los 26 pacientes. Así mismo se muestra la relación clínico molecular en pacientes con translocación específica posterior al inicio de quimioterapia **MI+**, encontrando 6 pacientes con translocación cromosómica en estadios III y IV.

M. SANGRE CON TRANSLOCACIÓN POR

GÉNERO

	HP	HIM	TOTAL
HOMBRE	1	4	5
MUJER	0	1	1

Tabla 8

MUESTRA DE SANGRE CON

TRANSLOCACIÓN + POR EDAD

	HP	HIM	TOTAL
0 a 5 años	0	2	2
6 a 11 años	1	2	3
>12 años	0	1	1

Tabla 9

**DISTRIBUCIÓN POR LOCALIZACIÓN
ANATÓMICA DE CASOS**

	HP	HIM	TOTAL
Cabeza	0	2	2
Cuello	0	0	0
Tórax	0	0	0
Abdomen	0	0	0
Extremidades	0	3	3
No especificado	1	0	1

Tabla 10

**RELACIÓN ENTRE ESTADÍO ONCOLÓGICO Y HALLAZGOS MOLECULARES
DISGREGADOS POR DIAGNÓSTICO**

No. Paciente	Dx.Codif	Estadío Oncológico	Detección de Translocación en Primera Muestra Sanguínea	
			Sin Quimio M0	Con Quimio M1
1	Ewing	I	positiva	
2	Ewing	I	positiva	
3	Ewing	III	positiva	
4	ARMS	III	positiva	
5	Ewing	III	positiva	
6	Ewing	IV	positiva	
7	Ewing	III		
8	Ewing	III		
9	ARMS	III		
10	ARMS	III		
11	SS	III		
12	Ewing	IV		
13	SS	III		
14	SS	IV		
15	Ewing	III		
16	ARMS	IV		
17	SS	I		
18	ARMS	IV		
19	Ewing	IV		
20	ARMS	IV		
21	Ewing	III		positiva
22	Ewing	III		positiva
23	Ewing	III		positiva
24	ARMS	III		positiva
25	Ewing	III		positiva
26	Ewing	IV		positiva

Tabla 11

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este trabajo la detección de translocaciones cromosómicas de células tumorales en muestras de sangre periférica se ha realizado de manera experimental en pacientes con tumores de células pequeñas redondas y azules al momento del diagnóstico y después del inicio de quimioterapia. Se tomaron muestras sanguíneas libre de quimioterapia en 12 de 26 pacientes reclutados para este estudio, aunque fue posible realizar los análisis moleculares en el resto de los pacientes (14 pacientes). La interpretación de los resultados se ha centrado en los pacientes con traslocación cromosómica específica, tanto en los vírgenes al tratamiento y en aquellos que por efecto de la quimioterapia se espera se afecten directamente los resultados, tratando de encontrar relación con el estadio oncológico. Si consideramos que 12 pacientes libres de quimioterapia constituyen el 100 % de un grupo específico, nuestros hallazgos indican que en general detectamos células circulantes en el 50% de los casos. Ya que solo en 6 de estos 12 pacientes fue posible detectar la translocación cromosómica específica. Aunque este grupo de estudio es muy pequeño se observa predominio de casos con diagnóstico de sarcoma de Ewing, con estadio oncológico desde etapa I a la IV, debido al reducido tamaño del grupo con muestras libres de quimioterapia es imposible establecer tendencias o agrupaciones más robustas. De los 26 pacientes estudiados, se detectó translocación cromosómica específica posterior al inicio de quimioterapia en solo 6 casos, que involucran casos con Sarcoma de Ewing predominantemente con estadios oncológicos III y IV.

Un estudio enfocado a la detección de células tumorales previo al inicio de quimioterapia en pacientes con sarcoma de Ewing demostró bajo porcentaje de detección el cual no se correlacionó con la supervivencia y el pronóstico de los pacientes²⁹. Mediante RT-PCR está reportado que se pueden detectar en 20 a 30 % de los pacientes con sarcoma de Ewing células ocultas en sangre periférica y médula ósea²⁸. Otro estudio ha demostrado la reducción de

células tumorales circulantes posterior a los ciclos de tratamiento establecidos en protocolos oncológicos para el sarcoma de Ewing, contemplando el análisis de células de sangre periférica antes del inicio de la quimioterapia. La monitorización incluyó el curso de las quimioterapias y al término de las mismas. En su análisis de resultados encontraron la disminución de células en sangre periférica con translocación cromosómica correspondiente con el método de RT-PCR. Sin embargo, en este estudio no se correlacionó su estadio oncológico ni la supervivencia de los pacientes³⁰. En estudios realizados para sarcoma sinovial también se ha utilizado la técnica de RT-PCR para evaluar las resecciones tumorales posterior a la extirpación tumoral y también se ha utilizado esta técnica para la detección de células tumorales residuales³¹.

En este trabajo se describió la relación que existe entre la detección de translocación cromosómica específica en muestras de sangre periférica para cada tipo de tumor, contrastado estos datos con el estadio oncológico al momento del diagnóstico y posterior a la primera dosis de quimioterapia. Tal como se observa en resultados, la frecuencia por edad y género cumple con la tendencia general reportada en la literatura, sin embargo, la detección de translocación cromosómica al momento del diagnóstico no tiene en general relación con el estadio oncológico.

La enfermedad residual mínima es un tema angular e imprescindible para sobre todo para evaluar la respuesta al tratamiento y recurrencia temprana de los tumores. La sensibilidad de las pruebas moleculares aplicadas a estos escenarios clínicos promete la posibilidad de detectar células tumorales circulantes tempranamente, sin embargo, el significado clínico de estas detecciones es aún un asunto no resuelto.

REFERENCIAS

1. Weingber RA. *The Biology of CANCER*. 2nd ed. (Group T& F, ed.). New York: Garland Science; 2014.
2. Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase. No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. doi:10.1016/j.ucl.2013.01.011.
3. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet (London, England)*. 2016;388(10053):1659-1724. doi:10.1016/S0140-6736(16)31679-8.
4. Plummer M, de Martel C, Vignat J, Ferlay J, Bray F, Franceschi S. Global burden of cancers attributable to infections in 2012: a synthetic analysis. *Lancet Glob Heal*. 2016;4(9):e609-16. doi:10.1016/S2214-109X(16)30143-7.
5. Irigaray P, Newby JA, Clapp R, et al. Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: an overview. *Biomed Pharmacother*. 2007;61(10):640-658. doi:10.1016/j.biopha.2007.10.006.
6. Roukos DH. Genome-wide association studies: how predictable is a person's cancer risk. *Expert Rev Anticancer*. 2009;9(4):389-392.
7. Mojarro O NL. MORTALIDAD INFANTIL EN MEXICO: TENDENCIAS Y FACTORES DETERMINANTES. *Salud Pública México*. 1988;30:329-345. <http://saludpublica.mx/index.php/spm/article/viewFile/174/167>. Accessed March 28, 2017.
8. Frenk J, F.T., bobadilla JL, Stern C. Lozano R, Sepúlveda J MJ. La transición epidemiologica en América Latina. *Bol Sanit Panam*. 1991;111:485-496.

9. Stern C, N.R., Tolbert K, Cárdenas V GM. Cambio en las condiciones de sobrevivencia infantil en México y estrategias para el futuro. *Salud Pública México*. 1990;32:532-542.
10. Singli GK, Yal SM. US Childhood Mortality, 1950 through 1993: Trends and Socioeconomic Differentials.
<http://ajph.aphapublications.org/doi/pdf/10.2105/AJPH.86.4.505>. Accessed March 28, 2017.
11. Juárez-Ocaña S, Mejía-Aranguré JM, Rendón-Macías ME, Kauffman-Nieves A, Yamamoto-Kimura LT, Fajardo-Gutiérrez A. Tendencia de las seis principales causas de mortalidad en niños mexicanos durante el periodo 1971-2000. La transición epidemiológica en los niños. *Gac Méd Méx*. 2003;139(4):325-336.
http://www.anmm.org.mx/bgmm/1864_2007/2003-139-4-325-336.pdf. Accessed March 28, 2017.
12. Fajardo-Gutiérrez A, Mejía-Aranguré JM, Hernández-Cruz L, Mendoza-Sánchez HF, Garduño-Espinosa J, Del Carmen Martínez-García M. Epidemiología descriptiva de las neoplasias malignas en niños. <http://www.scielosp.org/pdf/rpsp/v6n2/a1.pdf>. Accessed March 28, 2017.
13. Ries L, Miller R, Smith M. Cancer in children (ages 0–14 and ages 0–19). *SEER Cancer Stat Rev*. 1973;1990:1-15. [https://scholar.google.com.br/scholar?q=Cancer in children \(ages 0-14 and ages 0-19\) USA-SEER Cancer Statistics Reviews: 1973-1990, National Cancer Institute](https://scholar.google.com.br/scholar?q=Cancer+in+children+(ages+0-14+and+ages+0-19)+USA-SEER+Cancer+Statistics+Reviews:1973-1990,National+Cancer+Institute). Accessed March 29, 2017.
14. Parkin DM, Stiller CA, Draper GJ, Bieber CA. The international incidence of childhood cancer. *Int J Cancer*. 1988;42(4):511-520. doi:10.1002/ijc.2910420408.
15. Bernard JL, Bernard-Couteret E, Coste D, et al. Childhood cancer incidence in the south-east of France. *Eur J Cancer*. 1993;29(16):2284-2291. doi:10.1016/0959-8049(93)90223-3.

16. BROWN PDN, HERTZ H, OLSEN JH, YSSING M, SCHEIBEL E, JENSEN OM.
Incidence of Childhood Cancer in Denmark 1943–1984. *Int J Epidemiol*.
1989;18(3):546-555. doi:10.1093/ije/18.3.546.
17. Drut R, Hernández A, Pollono D. Incidence of childhood cancer in La Plata, Argentina,
1977–1987. *Int J Cancer*. 1990;45(6):1045-1047. doi:10.1002/ijc.2910450611.
18. Alert J, Jimenez J. Malignant tumors in Cuban children. Fourth triennial 1973-1975 of
the national cancer registry. *Neoplasma*. 1980;27(6):739-744.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7254430>. Accessed March 29, 2017.
19. Greenberg RS, Shuster JL. Epidemiology of cancer in children. *Epidemiol Rev*.
1985;7:22-48. doi:10.1093/OXFORDJOURNALS.EPIREV.A036284.
20. Llombart-Bosch A, Blache R, Peydro-Olaya A. Round-cell sarcomas of bone and their
differential diagnosis (with particular emphasis on Ewing’s sarcoma and
reticulosarcoma). A study of 233 tumors with optical and electron microscopic
techniques. *Pathol Annu*. 1982;17 Pt 2:113-145.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6763672>. Accessed April 17, 2017.
21. Aurias A, Rimbaut C, Buffe D, Dubousset J, Mazabraud A. [Translocation of
chromosome 22 in Ewing’s sarcoma]. *C R Seances Acad Sci III*. 1983;296(23):1105-
1107. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6416623>. Accessed April 18, 2017.
22. CDM. Fletcher, KK Unni and FM. Pathology and Genetics of Tumours of Soft Tissue
and Bone. *World Heal Organ*. 2002. [https://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-
gen/bb5/BB5.pdf](https://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/pat-gen/bb5/BB5.pdf). Accessed April 19, 2017.
23. MARTINEZ CLIMENT JA, CASTELSANCHEZ V, GARCIA-CONDE BRU J.
Medicina Clínica. Vol 111. Ediciones Doyma, S.A; 1998.
<http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=10650565>. Accessed April 19, 2017.
24. Bennicelli JL, Edwards RH, Barr FG. Mechanism for transcriptional gain of function

- resulting from chromosomal translocation in alveolar rhabdomyosarcoma. *Proc Natl Acad Sci.* 1996;93(11):5455-5459. doi:10.1073/pnas.93.11.5455.
25. Scheidler S, Frederickst WJ, Illt FJR, Barrt FG, Vogt PK. The hybrid PAX3-FKHR fusion protein of alveolar rhabdomyosarcoma transforms fibroblasts in culture (pediatric rhabdomyosarcoma/PAX protein/winged helix protein/oncogenic transformation/chicken embryo fibroblasts). *Med Sci.* 1996;93:9805-9809.
<http://www.pnas.org/content/93/18/9805.full.pdf>. Accessed August 16, 2017.
 26. Fritsch MK, Bridge JA, Schuster AE, Perlman EJ, Argani P. Performance characteristics of a reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for the detection of tumor-specific fusion transcripts from archival tissue. *Pediatr Dev Pathol.* 2003;6(1):43-53. doi:10.1007/s10024-002-0013-1.
 27. Morohoshi F, Ootsuka Y, Arai K, et al. Genomic structure of the human RBP56/hTAFII68 and FUS/TLS genes. *Gene.* 1998;221(2):191-198. doi:10.1016/S0378-1119(98)00463-6.
 28. Schleiermacher G, Peter M, Oberlin O, et al. Increased risk of systemic relapses associated with bone marrow micrometastasis and circulating tumor cells in localized ewing tumor. *J Clin Oncol.* 2003;21(1):85-91. doi:10.1200/JCO.2003.03.006.
 29. Vermeulen J, Ballet S, Oberlin O, et al. Incidence and prognostic value of tumour cells detected by RT-PCR in peripheral blood stem cell collections from patients with Ewing tumour. *Br J Cancer.* 2006;95(10):1326-1333. doi:10.1038/sj.bjc.6603438.
 30. Thomson B, Hawkins D, Felgenhauer J, Radich JP. RT-PCR evaluation of peripheral blood, bone marrow and peripheral blood stem cells in children and adolescents undergoing VACIME chemotherapy for Ewing's sarcoma and alveolar rhabdomyosarcoma. *Bone Marrow Transplant.* 1999;24(5):527-533. doi:10.1038/sj.bmt.1701939.

31. Willeke F, Mechtersheimer G, Schwarzbach M, et al. Detection of SYT-SSX1/2 fusion transcripts by reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) is a valuable diagnostic tool in synovial sarcoma. *Eur J Cancer*. 1998;34(13):2087-2093.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10070316>. Accessed September 7, 2017.

Anexo



Carta de Consentimiento Informado

Estudio Colaborativo: "Empleo de la Transcripción Inversa y Reacción de Polimerasa en Cadena (RT-PCR) para Precisar el Diagnóstico de Tumores de Células Pequeñas Redondas y Azules y su Valoración Inicial para Determinar Enfermedad Residual Mínima" Registrado con el número: _____

Hospital de Pediatría del CMN SXXI, IMSS

UIMEIP / Servicio de Oncología / Servicio de Patología.

México D.F. a _____ de _____ del 200_

A quien corresponda:

Yo _____

declaro libre y voluntariamente que acepto que mi(nuestro) hijo(a) _____ participe en el proyecto de investigación titulado "Empleo de la Transcripción Inversa y Reacción de Polimerasa en Cadena (RT-PCR) para Precisar el Diagnóstico de Tumores de Células Pequeñas Redondas y Azules y su Valoración Inicial para Determinar Enfermedad Residual Mínima", cuyo objetivo principal es tratar de detectar células tumorales que estén en la sangre y si están, valorar si desaparecen con el tratamiento. Los procedimientos que se realizarán me(nos) han sido explicados ampliamente, así como sus beneficios, consecuencias, y posibles riesgos, con garantía de recibir respuesta a preguntas y aclaraciones en cualquier momento.

Los **procedimientos** consisten en:

1. Autorizar que se tome una pequeña muestra de 4 ml de sangre de mi hijo(a) antes de iniciar la quimioterapia ó radioterapia.
2. Que se le tome una muestra de sangre de 4 ml a mi hijo(a) cada cuatro meses por los siguientes 12 meses.
3. En el caso de que mi niño(a) tenga alguno de los tumores mencionados, y que se le tenga que remover una parte de su tumor como parte de su tratamiento, autorizo que se realicen varios estudios de laboratorio en ese tumor.

Es probable que mi hijo(a) se beneficie de este estudio directamente ya que el objetivo es tratar de encontrar células tumorales en la sangre usando técnicas de laboratorio nuevas y en caso de que se encuentren, esto facilite a los médicos valorar la respuesta de mi hijo(a) a los tratamientos que se indiquen.

Los **riesgos** de este estudio para mi niño(a) consisten en un posible malestar en el momento de sacar la muestra de sangre, aunque esto se hará con equipo especial para minimizar el posible malestar.

La participación en este estudio es **voluntaria**. Es de mi conocimiento que seré libre de retirar a mi hijo(a) de esta investigación en el momento que lo desee, sin que esto afecte o le sea negada la atención necesaria para su tratamiento en esta Institución, y que se me entregará una copia de esta hoja de consentimiento.

En caso de alguna duda o preguntas a cerca de la participación en este estudio, favor de llamar a la Dra. Verónica Ponce al (55) 56 27 69 00 ext. 22408.

Nombre de los investigadores: Dra. Verónica Ponce / Dr. Hugo Rivera / Dr. Fernando Cerecedo /

Nombre y firma del padre o tutor: _____ Nombre del niño(a): _____

Nombre y firma de un Testigo: _____