



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA  
EN:**

**PATOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**TÍTULO DE LA TESIS**

**TRANSLOCACIONES DE LOS RABDOMIOSARCOMAS  
ALVEOLARES DIAGNOSTICADOS EN EL  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA DEL INSTITUTO  
NACIONAL DE PEDIATRÍA**

**PRESENTA:**

**DRA. GINA ANTONELLA DEL VECCHIO VANEGAS**

**TUTOR DE TESIS:**

**DR. MARIO PEREZPEÑA-DÍAZCONTI**

**DR. SERGIO JUÁREZ MÉNDEZ**

**DR. RODOLFO RODRÍGUEZ JURADO**



**Ciudad de México, 2024**



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.

**TRANSLOCACIONES DE LOS RABDOMIOSARCOMAS ALVEOLARES DIAGNOSTICADOS EN  
EL DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA DEL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**



---

**DR. LUIS XOCHIHUA DÍAZ  
DIRECTOR DE ENSEÑANZA**



---

**DRA. ROSA VALENTINA VEGA RANGEL  
ENCARGADA DEL DEPARTAMENTO DE PRE Y POSGRADO**



---

**DRA. CECILIA RIDAURA SÁNZ  
PROFESORA TITULAR DEL CURSO DE PATOLOGÍA PEDIÁTRICA**



---

**DR. MARIO PÉREZPEÑA DÍAZCONTI  
TUTOR DE TESIS**

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco al Dr. Mario PerezPeña-DíazConti y al Dr. Rodolfo Rodríguez Jurado por la oportunidad de participar en este proyecto de investigación. Así mismo, especialmente al Dr. Sergio Juárez Méndez por toda su guía y apoyo para la realización del estudio molecular de cada uno de los casos estudiados, así como a los estudiantes a su cargo que participaron y colaboraron en los distintos procedimientos. Además, a los histotecnólogos del Departamento de Patología del Instituto Nacional de Pediatría quienes colaboraron en la realización de cortes de parafina para extracción de ARN y en la realización de tinciones en Hematoxilina y Eosina, y de inmunohistoquímica. A todos los maestros del Departamento de Patología del Instituto Nacional de Pediatría que aportaron con sugerencias para la realización de este proyecto. Finalmente, a mi maestro, Dr. Moisés Espino, por la oportunidad y confianza en mí para esta formación profesional.

## Contenido

I – MARCO TEÓRICO .....	5
Definición .....	5
Epidemiología.....	5
Localización .....	5
Presentación clínica.....	6
Clasificación histológica .....	6
Características moleculares .....	7
Estadificación y Pronóstico .....	8
Diagnóstico diferencial.....	9
II - PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	9
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	10
III – JUSTIFICACIÓN.....	10
IV – OBJETIVOS.....	11
Objetivo general.....	11
Objetivos específicos.....	11
V– MATERIALES Y MÉTODOS .....	11
Diseño del estudio.....	11
Criterios de selección .....	12
Variables.....	12
Universo del estudio, selección y tamaño de muestra .....	14
Procedimiento del estudio .....	14
1. Identificación morfológica e inmunohistoquímica de los rhabdomyosarcomas alveolares....	14
2. Selección de los bloques de parafina para extracción de ARN y realización de técnica de PCR .....	14
3. Secuenciación.....	16
VI - PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	16
VII – ASPECTOS ÉTICOS.....	16
VIII – RESULTADOS .....	18
IX - DISCUSIÓN.....	23
X – CONCLUSIONES .....	24
XI - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	25

## I – MARCO TEÓRICO

### Definición

El rhabdomiocarcinoma es una neoplasia maligna de tejidos blandos, de alto grado, en donde las células neoplásicas tienden a la diferenciación miogénica.<sup>[1]</sup> El subtipo embrionario tiene características morfológicas e inmunofenotípicas de músculo esquelético embrionario.<sup>[2]</sup> El subtipo alveolar está compuesto por una población monomórfica de células redondas y primitivas, con diferenciación de músculo esquelético.<sup>[3]</sup>

### Epidemiología

El rhabdomiocarcinoma representa el tumor de tejidos blandos más frecuente en niños, sobre todo en los menores de 15 años, correspondiendo a la mitad de los casos en la infancia.<sup>[1,4]</sup> Se estima que constituyen el 4.5% de los tumores malignos en la infancia.<sup>[4]</sup> Se ha reportado una incidencia anual de aproximadamente 4.5 a 6 casos por millón de habitantes cada año.<sup>[4]</sup> En países asiáticos (Japón, India y China) la incidencia reportada es de 2 casos por millón de habitantes.<sup>[1]</sup>

En México, se ha reportado una incidencia anual promedio de 2.5 casos por un millón de niños sanos, con una relación masculino-femenino de 2:1. Del total de neoplasias malignas diagnosticadas en el Instituto Nacional de Pediatría (INP) para el año 2014, esta neoplasia ocupaba el séptimo lugar.<sup>[5]</sup>

El subtipo más común de rhabdomiocarcinoma es el embrionario, con alrededor del 4% de los casos ocurriendo en infantes y 1/3 de los casos en menores de 5 años. Es ligeramente más frecuente en el sexo masculino que en el femenino (relación M:F = 1.5:1).<sup>[2]</sup> El rhabdomiocarcinoma alveolar representa el 25% de estos tumores y ocurren en un rango de edad entre los 10 y 25 años. No hay diferencia significativa en la incidencia con respecto al sexo.<sup>[3]</sup>

### Localización

Los sitios más frecuentes de aparición de los rhabdomiocarcinomas son, en orden de frecuencia, los siguientes: cabeza y cuello (26%), tracto genitourinario (17%), retroperitoneo y pelvis, y extremidades superiores e inferiores.<sup>[4]</sup>

Con respecto a la localización en la región de cabeza y cuello, los sitios más frecuentemente involucrados son sitios parameningeos en un 20% (oído medio/mastoides, nasofaringe, senos paranasales, fosa infratemporal y fosa pterigoidea) y la órbita en un 7%.<sup>[4-6]</sup> Los que ocurren en localización parameningea se ha descrito que puede ser que surjan directamente en ese sitio o por extensión desde otro sitio distinto.<sup>[6]</sup> El subtipo histológico más frecuentemente descrito en región orbitaria es el embrionario.<sup>[4]</sup>

Los tumores que se localizan en el tracto genitourinario suelen encontrarse más frecuentemente en la región paratesticular, y son generalmente de subtipos histológicos embrionario o de células fusiformes/esclerosante. La localización en vejiga o próstata es mucho menor (5%); sin embargo, en niños menores de 10 años los rhabdomiocarcinomas embrionarios o botrioides representan los tumores vesicales más frecuentes.<sup>[4]</sup>

Los rhabdomiomas rara vez se presentan en las extremidades en población pediátrica. La mayoría son de subtipo alveolar (50%), un 26% de subtipo embrionario, y 2% de subtipo pleomórfico.<sup>[7]</sup>

### Presentación clínica

Dependiendo de la localización del tumor, así mismo van a ser las manifestaciones clínicas, usualmente relacionadas a un efecto de masa, aunque también pueden ser indolentes, esto principalmente en los de subtipo embrionario.<sup>[2]</sup> Los rhabdomiomas alveolares por el contrario tienen un rápido crecimiento y son altamente agresivos, y los síntomas también se relacionan con la localización y tamaño del tumor.<sup>[3]</sup>

Con respecto a los tumores de cabeza y cuello, aquellos de localización parameningea pueden desencadenar una parálisis de nervios craneales y síntomas meníngeos. Específicamente, en nasofaringe pueden manifestarse como obstrucción de la vía aérea, disfagia, epistaxis y alteraciones en la voz. En senos paranasales se pueden manifestar con epistaxis, sinusitis o dolor. Y los localizados en oído medio y mastoides pueden presentarse como otitis media o parálisis del nervio facial.<sup>[8]</sup> Los tumores orbitarios pueden causar diplopia o proptosis.<sup>[2]</sup>

Los tumores paraespinales se pueden manifestar con compresión de los nervios espinales. Aquellos de localización perirrectal o pélvicos cursan con síntomas obstructivos intestinales.<sup>[3]</sup> Cuando se localizan en el lumen de la vejiga causan obstrucción uretral y de la uretra prostática, lo que ocasiona incontinencia o retención urinaria.<sup>[4]</sup> En otros sitios del trato genitourinario como el escroto se presentan como una masa.<sup>[2]</sup>

### Clasificación histológica

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), los rhabdomiomas se dividen actualmente en 4 categorías, las cuales son: Embrionario, Alveolar, Fusiforme/esclerosante y Pleomórfico.<sup>[9]</sup> A continuación se describirán el alveolar y embrionario, categorías que afectan más a la población pediátrica.<sup>[10]</sup>

El Rhabdiosarcoma alveolar está compuesto por células pequeñas y redondas, las cuales tienden a agruparse a lo largo de septos fibrosos y pierden cohesividad hacia el centro, lo que confiere un aspecto pseudoalveolar. Los núcleos son redondos, con cromatina gruesa y con uno o dos nucléolos visibles. El citoplasma que muestran es muy escaso, de aspecto eosinofílico. Algunas células (mioblastos) pueden ser multinucleadas, pero aquellas con presencia de estriaciones transversas son infrecuentes.<sup>[11]</sup> Se ha descrito la variante sólida, que presenta células densamente compactadas dispuestas en láminas, sin presencia de septos fibrosos entremezclados.<sup>[11,12]</sup>

La categoría de Rhabdiosarcoma embrionario incluye el patrón conocido como Botrioides, además del patrón típico y el patrón denso.<sup>[11]</sup> En general, se trata de un tumor moderadamente celular, con estroma mixoide laxo. También se pueden observar áreas más densas celularmente, incluso algunos tumores pueden campos compuestos solamente por células densamente compactadas.<sup>[12]</sup> El patrón típico de este tumor muestra células con diferente morfología: redondas, estrelladas o fusiformes. Los núcleos son pequeños, con cromatina fina, y nucléolos inconspicuos,

los cuales a veces pueden ser más prominentes. Usualmente contienen células con abundante citoplasma eosinofílico, con elongaciones citoplasmáticas (“células en renacuajo”) y estriaciones transversas (menos de la mitad de los casos).<sup>[11]</sup>

El patrón Botrioides se refiere a los Rabdomiosarcomas embrionarios que presentan una capa de cambio subyacente a un epitelio de superficie intacto, la cual está constituida por una capa condensada de rabiomioblastos.<sup>[11]</sup> El patrón denso de Rabdomiosarcoma embrionario está conformado por células que se disponen en láminas, de aspecto estrellado, con poco citoplasma, con núcleo central ovoide o angulado, y con presencia de menor diferenciación rabiomioblástica.<sup>[12]</sup>

## Características moleculares

Los RMSA exhiben dos tipos de translocaciones, hasta el momento, exclusivas; entre el cromosoma 2 y 13 t(2;13)(q35;q14) y entre el cromosoma 1 y 13 t(1;13)(p36;q14), que ocurren en el 80% de los casos, con una relación 1:7, respectivamente<sup>[13]</sup>. Estas alteraciones genéticas conducen a la fusión de dos familias de factores transcripcionales. La primera, en el cromosoma 1 o 2, que involucra miembros de la familia de factores transcripcionales, PAX7 y PAX3 (paired box), respectivamente. Mientras que la segunda clase involucra miembros de la familia de los factores transcripcionales "forkhead" (FKHR) o FOXO1 (forkhead box O1). Los factores de transcripción PAX y FOXO1 poseen un dominio N-terminal de unión con el DNA y un dominio de transactivación C-terminal. Los puntos de ruptura para PAX y para FOXO1 ocurren en el intrón 7 y 1, respectivamente. Después de la fusión, se codifican dos proteínas quiméricas con actividad oncogénica, PAX3/FOXO1 y PAX7/FOXO1, compuestas por un dominio de unión al DNA 5'(PAX) y un dominio de transactivación 3'(FOXO1)<sup>[13]</sup>. Un estudio realizado por “The Children’s Oncology Group” (COG), en los Estados Unidos, mostró que los transcritos de la fusión PAX3/FOXO1 y PAX7/FOXO1 se detectan en el 55 y 22% de los RMSA, respectivamente, mientras que el porcentaje restante son negativos para la fusión<sup>[14]</sup>. Además, este grupo reportó que los RMSA metastásicos contienen la quimera PAX3/FOXO1, en comparación con los PAX7/FOXO1 que tienen un pronóstico mucho más favorable con porcentaje de supervivencia promedio de cuatro años de 8% y 75%, respectivamente<sup>[15]</sup>.

### PAX3 y PAX7: oncogénesis en RMS

Los mecanismos por los que la proteína quimérica PAX/FOXO1 contribuye en la oncogénesis de los RMS han sido muy estudiados<sup>[16]</sup>. Al parecer, la cantidad y localización celular de la proteína son críticas para su actividad oncogénica. Tanto PAX3/FOXO1 como PAX7/FOXO1 tienen una actividad transcripcional 100 veces mayor que la forma silvestre PAX3 y PAX7<sup>[17,18]</sup>. Las proteínas PAX/FOXO1 se expresan, por sí mismas, en altos niveles. El aumento en la expresión de PAX3 es producto del aumento en la transcripción, independiente del número de copias; mientras que la expresión elevada de PAX7 se asocia con la amplificación del gen<sup>[14,19]</sup>. Además del aumento en la expresión, PAX3/FOXO1 es más estable que PAX3, el cual, rápidamente degradado por proteólisis durante la diferenciación del músculo<sup>[19]</sup>. En la célula, estas proteínas quiméricas pueden encontrarse en el núcleo o en el citoplasma. En condiciones normales, la localización de la forma silvestre FOXO1 es controlada por AKT (serine/threonine kinase). Cuando AKT es estimulada, fosforila a FOXO1, causando su retención en el citoplasma. Sin embargo, en ARMS, la fusión PAX/FOXO1 es resistente



a la actividad de AKT, permaneciendo predominantemente en el núcleo [20]. Otro medio por el que la proteína PAX/FOXO1 contribuye en la oncogénesis, es impidiendo la apoptosis de las células tumorales, mediante la expresión de genes anti-apoptóticos como BCL-XL (B-cell lymphoma)<sup>[20,21]</sup>.

Estudios moleculares recientes han revelado que el RMSA exhibe otras alteraciones moleculares como la translocación t(2;2)(q35;p23) PAX3-NCOA1 con actividad oncogénica similar al PAX3-FOXO1, sin embargo, en menos proporción [23], PAX3-INO80D, mutaciones en NRAS, TP53, FGFR4 amplificación de MYCN<sup>[22]</sup>.

Rabdomiosarcomas “fusión positivos” y “fusión negativos”.

En la literatura se propone la clasificación de los Rabdomiosarcomas alveolares en fusión positivos y fusión negativos, respectivamente; tomando en cuenta que la proteína de fusión tiene implicaciones biológicas y clínicas.<sup>[1]</sup>

Se ha descrito que alrededor del 60%-70% de los tumores que son fusión positivos muestran proteína de fusión PAX3-FOXO1, 10-20% muestran proteína de fusión PAX7-FOXO1, y el 20 % restante corresponden a tumores fusión negativos.<sup>[15,23]</sup> Aquellos Rabdomiosarcomas alveolares que son fusión negativos se ha visto que tienen características moleculares y pronósticas que se asemejan al Rabdomiosarcoma embrionario.<sup>[1]</sup> (Ver la sección **Estadificación y Pronóstico**).

### Estadificación y Pronóstico

Se ha establecido por el Grupo de Estudio de Rabdomiosarcomas (IRSG por sus siglas en inglés) que el estatus de la enfermedad en Rabdomiosarcomas puede ser establecido en términos de grupo clínico. Así, existen grupos del I al IV, donde se aplican características clínicas y/o patológicas, y la presencia o ausencia de metástasis. (Ver Tabla 1).<sup>[24]</sup>

Tabla 1	
I	Enfermedad localizada, completamente resecada (ganglios regionales no involucrados). Confinado a músculo u órgano de origen. Compromiso contiguo con infiltración fuera del músculo u órgano de origen, así como a través de la fascia.
II	Tumor resecado macroscópicamente con enfermedad residual microscópica. No hay evidencia de tumor residual macroscópico; sin evidencia de compromiso de ganglios regionales. Enfermedad regional, completamente resecada (ganglios regionales involucrados y/o extensión de tumor hacia órgano adyacente; todo el tumor completamente resecado sin tumor residual microscópico. Enfermedad regional con ganglios comprometidos, macroscópicamente resecados, pero con evidencia de tumor residual microscópico.
III	Resección incompleta o biopsia con enfermedad residual macroscópica.
IV	Enfermedad metastásica a distancia presente (pulmón, hígado, hueso, médula ósea, cerebro, y ganglios y músculos a distancia.

En general, el Rabdomiosarcoma alveolar tiene un pronóstico menos favorable que el Rabdomiosarcoma embrionario.<sup>[25]</sup> Así mismo, desde el punto de vista molecular, dentro de la

categoría alveolar, aquellos que son fusión negativos, tienen cambios genéticos similares al Rbdomiosarcoma embrionario (ganancia de cromosomas completos, mutaciones puntuales recurrentes, pérdida alélica 11p15.5) y tienen un pronóstico similar a estos, que en general carecen de dicha fusión.<sup>[1]</sup>

Por otra parte, los tumores de categoría alveolar que son fusión positivos, presentan diferencias en el pronóstico, ya que la presencia de la proteína de fusión PAX3-FOXO1 es un factor predictivo independiente de desenlace adverso, mientras que la presencia de la proteína de fusión PAX7-FOXO1 conlleva mejor desenlace.<sup>[15]</sup>

### Diagnóstico diferencial

El diagnóstico diferencial de los Rbdomiosarcomas alveolares comprende las neoplasias que morfológicamente tengan un aspecto de tumores de células redondas y pequeñas. Estos incluyen: Sarcoma de Ewing, Neuroblastoma pobremente diferenciado o indiferenciado, Tumor desmoplásico de células redondas y pequeñas, Sarcoma sinovial monofásico pobremente diferenciado y linfoma. Se puede utilizar inmunohistoquímica para diferenciar confiablemente de estas entidades. Para distinguir entre Rbdomiosarcoma alveolar y embrionario, el primero característicamente muestra una positividad fuerte y difusa para miogenina (más del 80% de las células tumorales), mientras que el embrionario muestra una tinción focal.<sup>[11]</sup>

Los Rbdomiosarcomas embrionarios incluyen dentro de su diagnóstico diferencial a la variante Fusiforme/esclerosante; sin embargo, es necesario que este patrón sea al menos un 80% del tumor para establecer este diagnóstico. Otros diagnósticos diferenciales morfológicos son: Sarcoma embrionario indiferenciado del hígado y Tumor de Wilms, los cuales pueden distinguirse mediante inmunohistoquímica. Así mismo, el Rbdomioma fetal puede confundirse desde el punto de vista morfológico; más de 15 mitosis en 50 campos de alto aumento, hiper celularidad marcada, atipia nuclear y la presencia de una “capa de cambio”, ayudan a reconocer que se trata de un Rbdomiosarcoma. En el tracto genital inferior femenino ocurren los Pólipos fibroepiteliales pseudosarcomatosos, que deben distinguirse de los Rbdomiosarcomas botrioides. Estas lesiones no expresan miogenina y tampoco presentan la “capa de cambio” característica de los Rbdomiosarcomas botrioides.<sup>[11]</sup>

## II - PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El rbdomiosarcoma representa el tumor de tejidos blandos más frecuente en niños, sobre todo en los menores de 15 años. Se estima que constituyen el 4.5% de los tumores malignos en la infancia.<sup>[1,4]</sup> Se ha reportado una incidencia anual de aproximadamente 4.5 a 6 casos por millón de habitantes cada año.<sup>[4]</sup> En países asiáticos (Japón, India y China) la incidencia reportada es de 2 casos por millón de habitantes.<sup>[1]</sup> Las publicaciones a nivel nacional sobre la frecuencia de casos de rbdomiosarcomas son pocas. Particularmente, en el Instituto Nacional de Pediatría se han realizado estudios que reportaron en el año 2014, para rbdomiosarcomas parameníngeos un total de 35 casos en un período de estudio de 37 años<sup>[5]</sup>; y para el año 2011, 18 casos con localización paratesticular.<sup>[26]</sup>

A nivel nacional, se encontró un estudio (Eguía-Aguilar, 2010) realizado en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, en el cual se estudiaron los Rabdomiosarcomas alveolares diagnosticados en un período de 12 años, para demostrar la presencia de las translocaciones características utilizando tejido embebido en parafina, mediante dos técnicas moleculares (PCR-RT y FISH). Se reportaron 50% de los casos con presencia de alguna translocación y 30% de los casos sin translocación. Además, se establecieron asociaciones entre los casos con presencia de fusiones y variables como la edad y el estadio clínico.<sup>[23]</sup> Se ha visto que los casos “fusión positivos” tienen un comportamiento y pronóstico menos favorable que los “fusión negativos”. Además, la presencia de la proteína de fusión PAX3-FOXO1 se considera un factor predictivo independiente de desenlace adverso, en comparación a la proteína de fusión PAX7-FOXO1.<sup>[15]</sup>

No se han realizado otros trabajos que hayan sido publicados relacionados a este tipo de tumores desde entonces, ni se ha hecho la caracterización de las translocaciones presentes en los mismos en el Instituto Nacional de Pediatría. El desconocimiento del perfil de translocaciones presentes en los Rabdomiosarcomas diagnosticados, particularmente las que generan las proteínas de fusión PAX7-FOXO1 y PAX3-FOXO1, limita la correcta clasificación de estos tumores, lo que repercute consecuentemente en una imprecisión en el pronóstico establecido y eventualmente en una incapacidad para establecer un tratamiento dirigido con las terapias blanco que se están investigando, además de la posible e innecesaria exposición de cierto grupo de pacientes a tratamientos intensivos.<sup>[27,28]</sup> Debido a lo anterior, se debe realizar este estudio, ya que la información obtenida puede tener importancia pronóstica y terapéutica.

#### PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Con lo ya expuesto, mediante este estudio se busca conocer principalmente ¿Cuáles son las translocaciones de los Rabdomiosarcomas alveolares diagnosticados en el Instituto Nacional de Pediatría?

### III – JUSTIFICACIÓN

El rabdomiosarcoma es el sarcoma más común en la población pediátrica, debido a esto continúa siendo prioritario su estudio continuo, para un mejor entendimiento de la entidad, diagnóstico y consecuentemente tratamiento. Actualmente, con los nuevos métodos diagnósticos basados en biología molecular, es posible clasificar estas neoplasias según sus características moleculares, lo cual se ha visto que está principalmente relacionado al pronóstico, ya que aquellos tumores definidos como “fusión positivos” parecen tener peor pronóstico en comparación a los “fusión negativos”; y además, aquellos denominados “fusión positivos” pueden tener un subgrupo con presencia de la proteína de fusión PAX7-FOXO1, que presentan un mejor desenlace, que aquellos (más frecuentes) que presentan la proteína de fusión PAX3-FOXO1. Así mismo, la determinación del estatus de fusión puede ser de ayuda diagnóstica en los casos controversiales por histología. Por otra parte, hay pocos estudios relacionados a rabdomiosarcomas en la institución y en el país.

Debido a esto es menester realizar el presente estudio, con el objetivo de reclasificar según las características moleculares, en este caso las translocaciones, la casuística de rhabdomyosarcomas diagnosticados en el Instituto Nacional de Pediatría. Con la información obtenida en este trabajo de investigación se generará información útil estadística, ya que sería el primer estudio institucional en recopilar una casuística de rhabdomyosarcomas alveolares, y así categorizarlos según la presencia o no de las translocaciones a estudiar. Con esto se podrán sentar las bases para estudios futuros prospectivos, principalmente de sobrevida y tratamiento. Este estudio se puede considerar como pionero en el departamento y el instituto en materia de determinación de translocaciones, y eventualmente los resultados permitirán el desarrollo de otros estudios para el beneficio de los pacientes con este diagnóstico, ya que se podrían hacer las determinaciones de las translocaciones en el departamento de patología, con fines asistenciales; así mismo, se podría realizar de forma más precisa la selección de aquellos pacientes que más se beneficien de un tratamiento intensivo. Esta información se divulgará a nivel institucional, nacional e internacional, con la publicación en una revista científica.

## IV – OBJETIVOS

### Objetivo general

Describir las características moleculares (translocaciones) de los rhabdomyosarcomas alveolares diagnosticados en el servicio de Patología del Instituto Nacional de Pediatría entre los años 2012-2022.

### Objetivos específicos

1. Conocer la frecuencia y porcentaje de los Rhabdomyosarcomas alveolares según sexo, edad y sitio anatómico.
2. Describir el inmunofenotipo de los Rhabdomyosarcomas alveolares, según patrón de expresión de Miogenina, MyoD1, Desmina y Ki67.
3. Identificar el estadio clínico de los pacientes diagnosticados con Rhabdomyosarcoma alveolar.
4. Describir los genes de fusión asociados a los rhabdomyosarcomas alveolares mediante PCR y secuenciación.
5. Determinar la tasa de supervivencia de los pacientes con diagnóstico de Rhabdomyosarcoma alveolar.

## V– MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño del estudio

-Tipo de estudio: Observacional, descriptivo, retrospectivo, transversal.

Población: Pacientes de 0-18 años con Rhabdomyosarcoma alveolar.

-Población objetivo: Pacientes mexicanos con diagnóstico histopatológico de Rbdomiosarcoma alveolar.

-Población elegible: Pacientes atendidos en el Instituto Nacional de Pediatría entre 2012-2022.

-Espacio: Laboratorio de Patología Molecular, Departamento de Patología, Instituto Nacional de Pediatría.

-Tiempo: Período entre 2012 y 2022.

### Criterios de selección

-Criterios de inclusión:

1. Pacientes con diagnóstico histopatológico de Rbdomiosarcoma alveolar en el Instituto Nacional de Pediatría entre los años 2012-2022.
2. Casos con laminillas y bloques de parafina completos y disponibles en el Departamento de Patología del Instituto Nacional de Pediatría.
3. Pacientes con expedientes clínico electrónico disponible.

-Criterios de exclusión:

No se cuenta con criterios de exclusión para la realización de este estudio.

- Criterios de eliminación:

No aplica por ser un estudio de corte transversal.

### Variables

Variable	Definición operacional	Tipo de variable	Valor
Sexo	Condición orgánica, masculina o femenina consignado en el expediente clínico y/o informe histopatológico	Nominal	- Masculino - Femenino
Edad	Cantidad de años cumplidos por el paciente	Numérica	Menor de 1 año 1-5 años 6-10 años 11-15 años 16-18 años

Sitio anatómico	Lugar de presentación primario del tumor	Nominal	-Cabeza/cuello -Genitourinario -Tronco -Extremidades -Otro
Estadío clínico	Estadio del cáncer (cantidad o grado de diseminación del cáncer en el cuerpo) que se basa en los resultados de pruebas que se realizan antes de la cirugía.	Numérica	I II III IV
Tasa de supervivencia	Es el porcentaje de pacientes que siguen vivos transcurrido un período de tiempo (5 años) desde que se inició el tratamiento.	Numérica	Tasa de supervivencia relativa: Porcentaje de pacientes vivos en 5 años.
Proporción de Anticuerpo anti-Miogenina	Anticuerpo contra proteína reguladora transcripcional expresada en la diferenciación temprana del músculo esquelético.	Numérica	Porcentaje de células neoplásicas positivas.
Intensidad de Anticuerpo anti-Miogenina	Anticuerpo contra proteína reguladora transcripcional expresada en la diferenciación temprana del músculo esquelético.	Nominal	- Expresión nuclear fuerte. - Expresión nuclear débil. - Negativo.
Proporción de Anticuerpo anti-MyoD1	Porcentaje de Anticuerpo contra proteína reguladora transcripcional miogénica expresada en la diferenciación temprana del músculo esquelético	Numérica	Porcentaje de células neoplásicas positivas.
Intensidad de Anticuerpo anti-MyoD1	Anticuerpo contra proteína reguladora transcripcional miogénica expresada en la diferenciación temprana del músculo esquelético.	Nominal	- Expresión nuclear fuerte. - Expresión nuclear débil. - Negativo.
Proporción de Anticuerpo anti-Desmina	Porcentaje de Anticuerpo anti filamentos intermedios citoplasmáticos presentes en células con diferenciación miogénica.	Numérica	Porcentaje de células neoplásicas positivas.

Intensidad de Anticuerpo anti-Desmina	Anticuerpo anti filamentos intermedios citoplasmáticos presentes en células con diferenciación miogénica.	Nominal	- Expresión citoplasmática fuerte. - Expresión citoplasmática débil. - Negativo.
Ki67	Índice de proliferación de las células neoplásicas	Numérica	- Porcentaje de células neoplásicas positivas.
Status gen de fusión	Ausencia o presencia del gen de fusión, específico para rhabdomyosarcoma alveolar, producto de la translocación estable de los cromosomas 2 y 13 o 1 y 13, respectivamente.	Nominal	-PAX3-FOXO1 positivo -PAX7-FOXO1 positivo - No aplica

### Universo del estudio, selección y tamaño de muestra

El universo del estudio comprende los casos de Rhabdomyosarcoma alveolar diagnosticados en el Instituto Nacional de Pediatría entre los años 2012 al 2022, que consistan en biopsias diagnósticas. Según registros de la base de datos del Departamento de Patología hubo 26 casos en ese período de tiempo. Por lo tanto, en este estudio el universo es de 26 casos. Se utilizará la totalidad del universo como muestra, por lo que no será necesario el procedimiento de muestreo.

### Procedimiento del estudio

#### 1. Identificación morfológica e inmunohistoquímica de los rhabdomyosarcomas alveolares

Se realizará una búsqueda en la base de datos del servicio de Patología desde el 2012 hasta el 2022 (10 años), utilizando las palabras clave “Rhabdomyosarcoma” y “Alveolar”. Se hará una revisión de las laminillas de Hematoxilina-Eosina e inmunohistoquímica correspondientes a las biopsias diagnósticas (pretratamiento) de cada paciente. Se completará la inmunohistoquímica a aquellos casos que los requieran. Posteriormente, en base a la laminilla de Hematoxilina-Eosina, se demarcará un área representativa del tumor y se seleccionará bloque de parafina correspondiente con tejido para extracción de ARN.

#### 2. Selección de los bloques de parafina para extracción de ARN y realización de técnica de PCR

Luego de la selección del bloque de parafina, se realizarán 10 cortes en el microtomo de 5 micras, se depositarán en tubo de 1.5 ml y se procederá a la purificación del RNA total. El RNA se purificará utilizando el kit comercial Rneasy FFPE de acuerdo a lo establecido por la casa comercial. De manera general se agregará 1.4 ml de Xilol, se calentará por 10 min a 50°C, se centrifugará a 14 mil revoluciones por 2 minutos, se decantará y se le agregará 1 ml de etanol absoluto, se dará vortex y se centrifugará a 14 mil revoluciones por 2 minutos, se le agregará 1 ml de etanol absoluto nuevamente, se dará vortex y se centrifugará a 14 mil revoluciones por 2 minutos. Posteriormente, se agregará 240 ul de Buffer PKD se dará vortex y se centrifugará a 10 mil revoluciones por un minuto. Se agregará 10 ul de

proteinasas K, se mezclará por pipeteo (10 veces) y se colocará en el termoblock a 56°C por 15 min, a continuación, a 80°C por 15 min (se debe mezclar por inversión cada 5 min). Se dará un spin por 5 segundos. Se recuperará la fase acuosa, se incubará por 3 minutos en frío. Se centrifugará por 15 min a 13500 rpm, el sobrenadante se transferirá a un tubo nuevo. Posteriormente, se agregará 25 ul de buffer Booster más 10 ul de DNasa 1, se mezclará por inversión y dar spin. Incubar 15 min a temperatura ambiente y agregar 500 de buffer RBC y dar vortex. Posteriormente, se fraccionará por la mitad la muestra y se agregará al tope etanol absoluto y se mezclará por pipeteo e incubar por 10 min en frío. Transferir 700 ul de la muestra a la columna y centrifugar 15 s. a 10 mil rpm y descartar, repetir hasta agotar la muestra. Agregar 500 ul de buffer RPE a la columna y centrifugar 10 mil rpm por 15 s. y descartar. Agregar 500 ul de buffer RPE y centrifugar por 2 min a 10 mil rpm. Transferir la columna a un tubo colector limpio y centrifugar 5 min a máxima velocidad. Colocar el tubo en un tubo nuevo y agregar 12 ul de agua previamente calentada a 50°C en el centro de la columna, incubar por 1 a Temperatura ambiente y centrifugar a máxima velocidad por 1 min. Agregar nuevamente 12 ul de agua y centrifugar. Se cuantificará la muestra en el nanodrop y se almacenará a -70°C hasta su uso.

#### **- Síntesis de CDNA**

Para la síntesis de cDNA se tratará al RNA con DNasa para esto se agregará 1 ul de buffer de DNasa, 1 ul de DNasa al RNA en un volumen final de 10 uL. Se incubará a 37°C por 30 min, posteriormente se le agregará 1 ul de EDTA 50 uM y se incubará a 65°C por 10 min. Posteriormente se realizará una mezcla que contiene 1 ul de buffer de la RT 5 x, dNTPs 10 mM, Random hexámeros, Ribolock, Reverd Aid Transcript y el RNA tratado con la DNasa. Toda la mezcla se incubará en el termociclador a 25°C por 10 min, 42°C por 60 min y 70°C por 10 min.

#### **- Reacción en cadena de la polimerasa**

El cDNA sintetizado a partir de las muestras, se evaluará para determinar la expresión del gen constitutivo RPL4, por PCR en punto final. Para ello se usaron 7.5µL del mix comercial KAPA 2G Fast HotStar Ready Mix, 10mM de primer forward (5'-CGAATGAGAGCTGGCAAAGGCAAA-3'), 10mM del primer reverse (5'-ACGCCAAGTGCCGTACAATTCATC -3'), 50ng de cDNA y H2O DEPC hasta un volumen final de 15µL. Las muestras que tengan expresión del gen constitutivo se evaluarán para la expresión de las translocaciones PAX3-FOXO1 y PAX7-FOXO1.

La mezcla de reacción se incubará a 95°C por 3min para la pre-desnaturalización, seguido de 38 ciclos de amplificación: 95°C por 15 segundos, temperatura de alineamiento (Tm) por



15 segundos y 72°C por 15 segundos. Finalmente, un ciclo de extensión final a 72°C por 5min. Los productos de PCR se evaluarán por electroforesis en geles de agarosa al 2% a 90Volts durante 35min, y serán teñidos con bromuro de etidio y visualizados en el fotodocumentador FUSION FX.

#### **- Purificación de los productos de PCR**

Para la purificación se emplearán 15  $\mu$  l de productos de PCR punto final. Se añadirá 50  $\mu$  l de isopropanol frío y se centrifugará a 13,300 rpm por 15 minutos. Se decantará el sobrenadante y se agregará 600  $\mu$  l de etanol absoluto, se centrifugará a 13,300 rpm por 15 minutos, dejar secar la muestra a 55° C por 10 minutos y 10 minutos a temperatura ambiente. Se resuspenderá en 15  $\mu$  l de H2O libre de nucleasas y se cuantificará en NanoDrop One (Thermo Scientific, USA).

### 3. Secuenciación

Se confirmará la translocación mediante Secuenciación Sanger. Para ello, se empleará el BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, USA). Las reacciones se prepararán con 20 ng de productos purificados, 3.5  $\mu$  l de BigDye Terminator Sequencing Buffer (5X), 1  $\mu$  l de primer (forward o reverse), 0.5  $\mu$  l de enzima BigDye Terminator, se llevará a un volumen final de 10  $\mu$  l con H2O libre de nucleasas. Las reacciones se incubarán en el termociclador: 25 ciclos a 95°C por 30 segundos, 50°C por 15 segundos y 60°C por 4 minutos.

## VI - PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Después de la recolección de la información se creará una base de datos en el programa Microsoft Excel, en el mismo se tabularán los datos de las variables del estudio según frecuencia, porcentajes, tasas y razones para las variables cualitativas. Se presentarán los resultados en gráficas y tablas, y se confeccionará un manuscrito con las mismas, junto con las conclusiones y recomendaciones. Para las variables cuantitativas se utilizarán medias o medianas y sus respectivas medidas de dispersión, de acuerdo a su distribución.

## VII – ASPECTOS ÉTICOS

Para la realización de este estudio, se acepta cumplir con los principios éticos y morales que deben regir toda investigación que involucra sujetos humanos como lo son: Declaración de Helsinki, Informe Belmont, Buenas Prácticas Clínicas y las normas y criterios éticos establecidos en los códigos nacionales de ética y/o leyes vigentes, incluyendo el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación en Salud. También nos comprometemos a respetar la confidencialidad de los datos obtenidos de los expedientes clínicos y de cualquier otro método de recolección de datos,

y a no divulgar ninguna información que permita identificar a los sujetos en estudio. Se contará con un sistema récord (libro de código) para registrar el número de biopsia del informe histopatológico con su respectivo código numérico asignado. Se considera un estudio sin riesgo dado que es retrospectivo basado en la revisión de historias clínicas, laminillas y tejido en bloques de parafina, y no involucra intervención directa con sujetos humanos por lo que no se necesita consentimiento informado.

Se solicitarán permisos y aprobaciones respectivas por el Comité Académico del Instituto Nacional de Pediatría.

Toda la información registrada en el formulario de recolección de datos, y tabulada en el programa Microsoft Excel 2010, será resguardada en la Jefatura del Departamento de Patología, por un período mínimo de cinco años.

## VIII – RESULTADOS

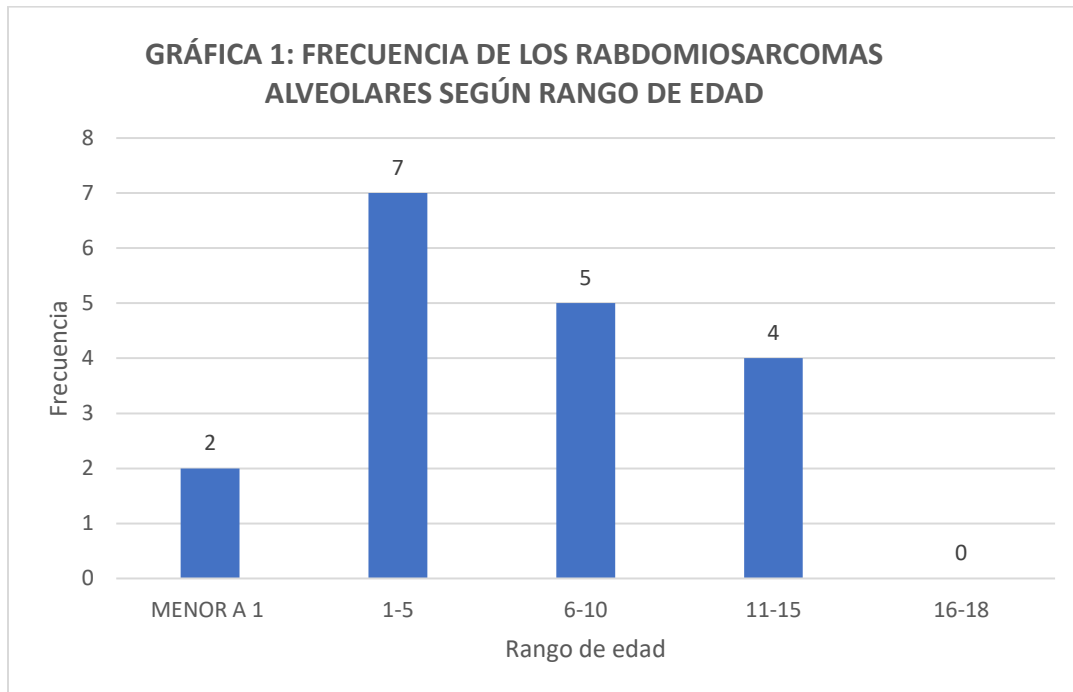
Se obtuvo un total de 26 informes histopatológicos correspondientes al diagnóstico de Rbdomiosarcoma alveolar, tras la búsqueda en la base de datos. Se aplicaron criterios de inclusión, quedando una población de n = 18 casos para analizar.

La mayoría de la población estaba compuesta por pacientes del sexo masculino (n=10, 56%). El rango de edad se distribuyó desde menores de 1 año (4 meses) hasta los 14 años, con un promedio de 6 años (Tabla 1 y Gráfica 1).

**TABLA 1: FRECUENCIA DE RABDOMIOSARCOMAS ALVEOLARES SEGÚN SEXO**

SEXO	FRECUENCIA (n)	PORCENTAJE
MASCULINO	10	56%
FEMENINO	8	44%
TOTAL	18	100%

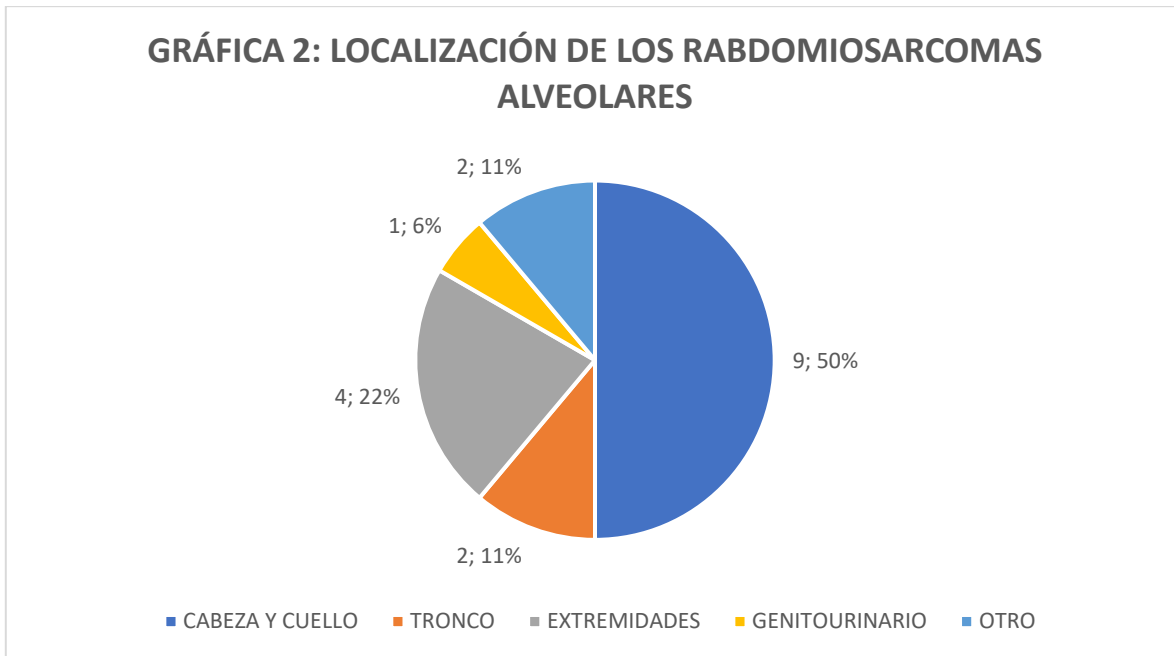
Fuente: Base de datos. Servicio de Patología. INP. México, 2012-2022.



Fuente: Base de datos. Servicio de Patología. INP. México, 2012-2022.

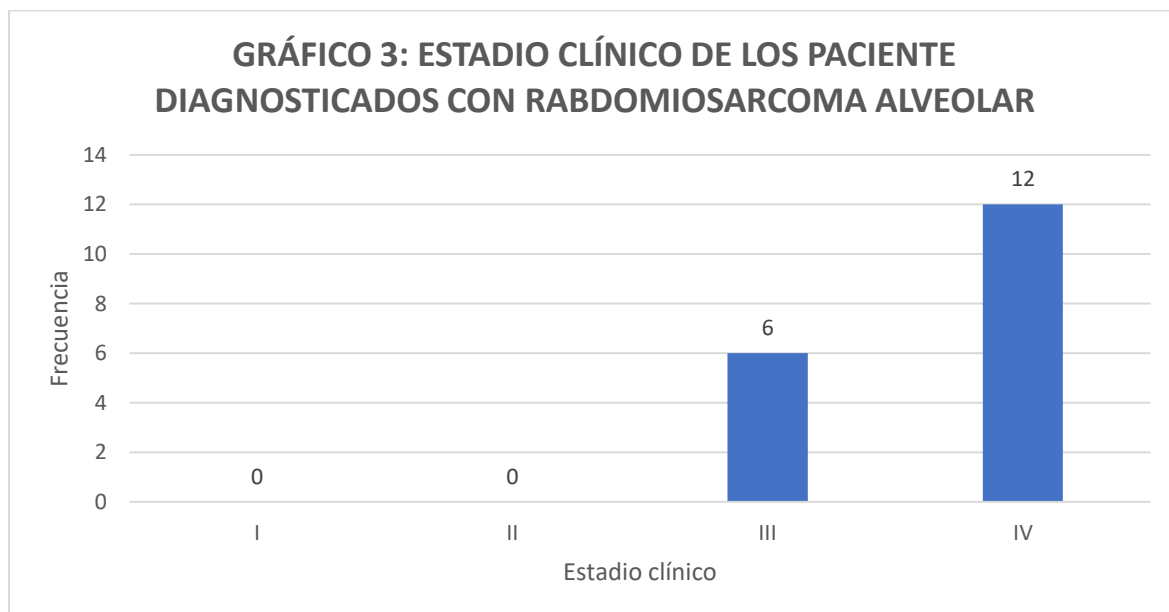
El sitio anatómico más frecuente de localización fue en cabeza y cuello (n=9, 50%), seguido de las extremidades (n=4, 22%), tronco (n=2, 11%), retroperitoneo (n=2, 11%) y genitourinario (localización paratesticular) (n=1, 6%). Los casos con localización en cabeza y cuello estaban representados mayoritariamente por biopsias de tumores orbitarios (n=4, 44%), otros 4 de

localización parameningea (44%), involucrando fosa nasal, antro maxilar, seno etmoidal y seno maxilar, y fosa pterigopalatina, respectivamente; el caso restante correspondió a biopsia de masetero (n=1, 11%) (Gráfica 2).



Fuente: Base de datos. Servicio de Patología. INP. México, 2012-2022.

La mayoría de los pacientes se encontraba en estadio clínico IV (n=12, 67%), seguido de estadio clínico III (n=6, 33%) (Gráfica 3).



Fuente: Base de datos. Servicio de Patología. INP. México, 2012-2022.

De los casos analizados, 12 (67%) de ellos contaban con material genético de ARN viable. De estos casos, 6 (50%), mostraron amplificación para la translocación PAX-FOXO1. El resultado del método de secuenciación Sanger para 5 de estos casos determinó la presencia de la fusión PAX3-FOXO1 (n=5, 42%), ver Tabla 2 y Figura 1. Un caso no pudo ser secuenciado (resultado indefinido) hasta el momento de la terminación del estudio.

Tabla 2: RESULTADOS DE BÚSQUEDA DE TRANSLOCACIÓN PAX-FOXO1 MEDIANTE PCR Y ESTATUS DE GEN DE FUSIÓN

CASO	AMPLIFICACIÓN GEN RPL4	AMPLIFICACIÓN DE TRANSLOCACIÓN	ESTATUS DE GEN DE FUSIÓN
1	No	No	No aplica
2	Sí	No	No aplica
3	Sí	No	No aplica
4	Sí	No	No aplica
5	No	No	No aplica
6	Sí	No	No aplica
7	Sí	Sí	PAX3-FOXO1 positivo
8	Sí	Sí	PAX3-FOXO1 positivo
9	Sí	No	No aplica
10	No	No	No aplica
11	No	No	No aplica
12	No	No	No aplica
13	No	No	No aplica
14	Sí	No	No aplica
15	Sí	Sí	PAX3-FOXO1 positivo
16	Sí	Sí	PAX3-FOXO1 positivo
17	Sí	Sí	Indefinido
18	Sí	Sí	PAX3-FOXO1 positivo

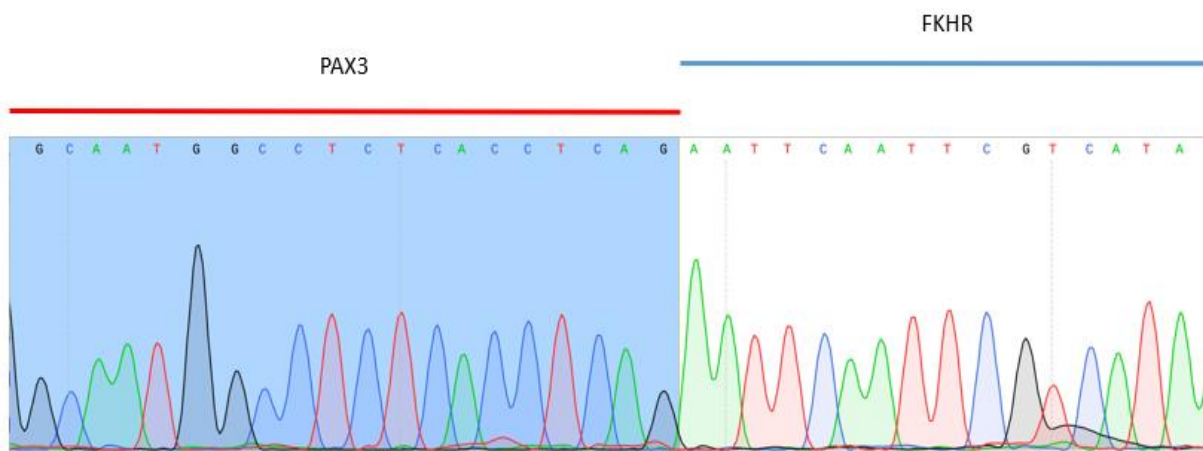


Figura 1: Secuencia representativa de los resultados de la fusión PAX3/FOXO1.

Con respecto al inmunofenotipo expresado, la mayoría de los casos mostró una positividad fuerte citoplasmática para anticuerpo anti-Desmina (n=17, 94%), positividad fuerte nuclear para miogenina (n= 16, 89%) y positividad nuclear débil para MyoD1 (n=16, 89%); Tabla 3. Con respecto al anticuerpo anti-MyoD1, un caso no pudo analizarse ya que se agotó el tejido en los bloques de parafina disponibles.

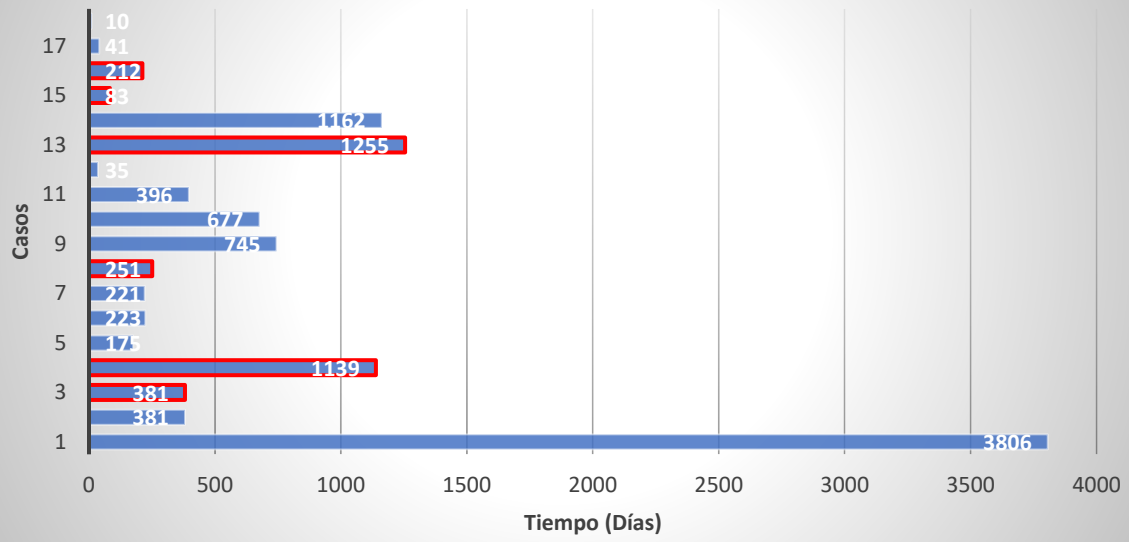
**TABLA 3: INMUNOFENOTIPO DE LOS RABDOMIOSARCOMAS ALVEOLARES DIAGNOSTICADOS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA**

CASO	DESMINA	PROPORCIÓN	MIOGENINA	PROPORCIÓN	MYOD1	PROPORCIÓN	KI67
1	CITOPLÁSMICO FUERTE	98%	NUCLEAR FUERTE	100%	NUCLEAR DÉBIL	95%	80%
2	CITOPLÁSMICO FUERTE	30%	NUCLEAR FUERTE	70%	NUCLEAR FUERTE	90%	97%
3	CITOPLÁSMICO FUERTE	40%	NUCLEAR FUERTE	50%	NUCLEAR DÉBIL	80%	80%
4	CITOPLÁSMICO FUERTE	40%	NUCLEAR FUERTE	98%	NUCLEAR DÉBIL	40%	90%
5	CITOPLÁSMICO FUERTE	98%	NUCLEAR DÉBIL	50%	NUCLEAR DÉBIL	98%	30%
6	CITOPLÁSMICO FUERTE	80%	NUCLEAR FUERTE	90%	NUCLEAR DÉBIL	30%	95%
7	CITOPLÁSMICO FUERTE	40%	NUCLEAR FUERTE	98%	NUCLEAR DÉBIL	40%	60%
8	CITOPLÁSMICO FUERTE	80%	NUCLEAR FUERTE	90%	NUCLEAR DÉBIL	20%	70%
9	CITOPLÁSMICO FUERTE	90%	NUCLEAR FUERTE	20%	NUCLEAR DÉBIL	50%	70%
10	CITOPLÁSMICO DÉBIL	80%	NUCLEAR FUERTE	70%	NUCLEAR DÉBIL	1%	95%
11	CITOPLÁSMICO FUERTE	95%	NUCLEAR FUERTE	90%	-	-	90%
12	CITOPLÁSMICO FUERTE	80%	NUCLEAR FUERTE	90%	NUCLEAR DÉBIL	95%	50%
13	CITOPLÁSMICO FUERTE	100%	NUCLEAR FUERTE	20%	NUCLEAR DÉBIL	2%	40%
14	CITOPLÁSMICO FUERTE	100%	NUCLEAR FUERTE	98%	NUCLEAR DÉBIL	50%	98%
15	CITOPLÁSMICO FUERTE	100%	NUCLEAR FUERTE	80%	NUCLEAR DÉBIL	98%	100%
16	CITOPLÁSMICO FUERTE	50%	NUCLEAR DÉBIL	70%	NUCLEAR DÉBIL	5%	50%
17	CITOPLASMÁTICO FUERTE	50%	NUCLEAR FUERTE	90%	NUCLEAR DÉBIL	70%	98%
18	CITOPLASMÁTICO FUERTE	100%	NUCLEAR FUERTE	80%	NUCLEAR DÉBIL	10%	100%

El índice de proliferación calculado con Ki67 para la mayoría de los casos fue alto, 16 casos (89%) con un índice igual o mayor al 50%, y el resto con 30% y 40%, respectivamente.

Se calculó el tiempo de sobrevida de los pacientes (Gráfica 4); hubo 6 pacientes que fallecieron durante el período de estudio, con tiempos de sobrevida mínimo de 83 días y máximo de 1139 días. El resto de los pacientes estaban vivos hasta la última consulta registrada en el expediente en el tiempo de estudio; el caso con menos tiempo de sobrevida (censurada) tuvo al menos 10 días de sobrevida y el mayor con hasta al menos 3806 días (127 meses). La tasa de sobrevida calculada fue de 70%.

### Gráfica 4: Tiempo de sobrevida



## IX - DISCUSIÓN

En este estudio se encontró un total de 26 casos en un período de 10 años de estudio, cifra similar a los 30 casos reportados en el estudio de Eguía-Aguilar<sup>[23]</sup>, en un período de tiempo igual. Así mismo en este último estudio se encontró una ligera mayor proporción de pacientes de sexo masculino (17 casos, 57%), que de sexo femenino (13 casos, 43%), con una relación de 1.3:1; hallazgos similares a nuestros datos, en los cuales hubo mayor cantidad de pacientes de sexo masculino (10 casos, 56%) en comparación al sexo femenino (8 casos, 44%), con una relación de 1.25:1. La Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó que no hay diferencia significativa en la incidencia de esta neoplasia con respecto al sexo.<sup>[3]</sup>

Con respecto a la edad, en nuestro estudio hubo mayor cantidad de pacientes en el rango de edad de 1-5 años y menores de 1 año (total de 9 casos, 50%), teniendo el resto de los pacientes 6 o más años de edad, y un promedio total de 6.4 años. La mitad restante de los casos correspondieron a pacientes con edad igual o mayor a 6 años. Esto es similar a lo encontrado por Eguía-Aguilar, et al<sup>[23]</sup>; donde hubo 16 casos (56%) con 6 años o menos y el resto tenían 7 años o más, además con un promedio de edad ponderada calculada de 7.3 años. En la literatura internacional, según la OMS, el rango de edad en la que se presenta el Rabdomiosarcoma alveolar es en niños mayores (10 hasta 25 años).

Con respecto a la localización de los Rabdomiosarcomas alveolares estudiados, el sitio más frecuente fue cabeza y cuello (9 casos, 50%), seguido por las extremidades (4 casos, 22%); lo cual es congruente con los reportado por Eguía-Aguilar et al, quienes encontraron un total de 12 casos (40%) en cabeza y cuello, seguido por 9 casos en extremidades (30%)<sup>[23]</sup>. Además, en general, los rabdomiosarcomas en general se localizan mayoritariamente en cabeza y cuello en un 26%.<sup>[4]</sup>

Por otra parte, el estadio clínico de los pacientes en este estudio, al momento del diagnóstico eran estadios avanzados. En mayor porcentaje se encontró estadio IV (12 casos, 71%), seguido por estadio III (6 casos, 33%); lo cual coincide con los reportado en el estudio de Eguía-Aguilar et al, donde la mayor parte de los pacientes se encontraba en estadios III y IV (24 casos, 80%), estando el resto en estadios I y II.

El estudio molecular de los casos de Rabdomiosarcoma alveolar analizados, mostró 5 casos (28%) con gen de fusión PAX3-FOXO1, ningún caso con fusión PAX7-FOXO1, y 6 casos (33%) con ninguno de los dos genes de fusión (fusión negativos). Estos resultados son congruentes con lo publicado por Eguía-Aguilar et al, quienes encontraron que la mayoría de los casos fusión positivos mostraban la presencia del gen de fusión PAX3-FOXO1 (15 casos, 50%). Así mismo, hubo un porcentaje de casos reportados como fusión negativos (9 casos, 30%), similar a nuestro estudio; y un grupo de casos no



evaluables (5 casos, 17%), mientras que en nuestro trabajo fueron 6 casos (33%), los cuales no contaban con material de ARN adecuado para análisis.

Con respecto al inmunofenotipo expresado por las neoplasias en este estudio, todos los casos expresaron anticuerpos de diferenciación miogénica (Desmina, Miogenina y MyoD1). La mayoría fueron positivos para Desmina, con expresión citoplásmica fuerte (17 de 18 casos), con una proporción mayor al 50% en la mayoría. Así mismo, la expresión nuclear de Miogenina y MyoD1, es congruente con lo reportado en la literatura.<sup>[29]</sup> Se obtuvo una positividad para Miogenina en todos los casos de nuestro estudio, con 12 casos (67%) con una proporción de células neoplásicas positivas mayor al 75%. Esto semejante a lo reportado por Kumar et al., donde se estudiaron 68 Rbdomiosarcomas y todos fueron positivos para este anticuerpo, en más del 75% de las células neoplásicas.<sup>[30]</sup> Además, en nuestro estudio, los casos con menor porcentaje de células neoplásicas positivas (6 casos, uno de ellos con 30% de células neoplásicas positivas), no fue inferior al 25% de células neoplásicas, que fue lo reportado por Kumar et al, correspondiendo a casos de Rbdomiosarcoma embrionario, lo que podría sugerir que no necesariamente en nuestro estudio estos casos corresponden a este último subtipo (embrionario). Respecto al MyoD1, nuestros resultados son similares a los hallazgos de Cessna et al, donde todos los casos de Rbdomiosarcoma fueron positivos a este anticuerpo.<sup>[31]</sup> Además, en ese estudio se reporta la presencia de tinción de fondo que dificultó la interpretación del mismo. En nuestro estudio existió la dificultad técnica de expresión nuclear débil en la mayoría de los casos (16 casos), y también existió la presencia de tinción de fondo. Por otra parte, la mayoría de los casos mostraron un índice de proliferación (Ki67) elevado, igual o mayor al 50%, lo cual es esperado en este tipo de neoplasias que por su naturaleza conllevan peor pronóstico en comparación al subtipo embrionario.

Por último, la tasa de sobrevida calculada fue de 70%. Este resultado es congruente a lo reportado en la literatura internacional<sup>[1]</sup>, donde la sobrevida global a 5 años de los Rbdomiosarcomas es del 70%. Este hallazgo es inferior a lo publicado por Hibbits, et al., con una sobrevida global de 79%, con un 42% para grupo clínico IV y 84% para grupo clínico I, II y III.<sup>[32]</sup>

## X – CONCLUSIONES

En 10 años de estudio se encontraron 26 casos con biopsias diagnósticas de Rbdomiosarcoma alveolar. Los casos que pudieron analizarse mediante PCR y que amplificaron el gen de fusión PAX-FOXO1 fueron 6, y todos los que se pudieron secuenciar mostraron la translocación más frecuente (PAX3-FOXO1).

## XI - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Skapek SX, Ferrari A, Gupta AA, Lupo PJ, Butler E, Shipley J, et al. Rhabdomyosarcoma. *Nat Rev Dis Primer.* 2019;5(1).
2. Rudzinski E, Khan J. Embryonal rhabdomyosarcoma. En: Werneck I, editor. *WHO Classification of Tumours. Soft Tissue and Bone Tumours.* Lyon: IARC; 2020.
3. Kohashi K, Bode-Lesniewska B. Alveolar rhabdomyosarcoma. En: Werneck I, editor. *WHO Classification of Tumours. Soft Tissue and Bone Tumours.* Lyon: IARC; 2020.
4. Goldblum J, Weiss S, Folpe A. Rhabdomyosarcoma. En: *Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors.* Philadelphia: Elsevier; 2020. página 652–88.
5. Bellido R, Cárdenas R del S, Rodríguez R. Rbdomiosarcoma parameningeo. Experiencia de 37 años en el Instituto Nacional de Pediatría [Tesis]. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México; 2014.
6. Merks JHM, De Salvo GL, Bergeron C, Bisogno G, De Paoli A, Ferrari A, et al. Parameningeal rhabdomyosarcoma in pediatric age: results of a pooled analysis from North American and European cooperative groups. *Ann Oncol.* 2014;25(1):231–6.
7. Newton WA, Soule EH, Hamoudi AB, Reiman HM, Shimada H, Beltangady M, et al. Histopathology of childhood sarcomas, Intergroup Rhabdomyosarcoma Studies I and II: clinicopathologic correlation. *J Clin Oncol.* 1988;6(1):67–75.
8. Grube P, Rodríguez R. Morfología de los rbdomiosarcomas parameningeos [Tesis]. Experiencia del Instituto Nacional de Pediatría en 37 años. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México; 2011.
9. WHO Classification of Tumours Editorial Board, editor. *Soft tissue and bone tumours* [Internet]. 5th ed. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2020. Available from: <https://tumourclassification.iarc.who.int/chapters/33>.
10. Loeb DM, Thornton K, Shokek O. Pediatric Soft Tissue Sarcomas. *Surg Clin North Am.* 2008;88(3):615–8.
11. Davis J, Arnold M, Shenoy A, Surrey L, Weiss A, Rudzinski E. Protocol for the Examination of Resection Specimens From Pediatric Patients With Rhabdomyosarcoma [Internet]. College of American Pathologists; 2022. Disponible en: [https://documents.cap.org/protocols/Rhabdomyosarcoma\\_4.1.1.1.REL\\_CAPCP.pdf](https://documents.cap.org/protocols/Rhabdomyosarcoma_4.1.1.1.REL_CAPCP.pdf)
12. Rudzinski ER, Teot LA, Anderson JR, Moore J, Bridge JA, Barr FG, et al. Dense Pattern of Embryonal Rhabdomyosarcoma, a Lesion Easily Confused With Alveolar Rhabdomyosarcoma. *Am J Clin Pathol.* 2013;140(1):82–90.
13. Keller C, Guttridge DC. Mechanisms of impaired differentiation in rhabdomyosarcoma. *FEBS J.* 2013;280(17):4323–34.

14. Barr FG, Nauta LE, Davis RJ, Schafer BW, Nycum LM, Biegel JA. In Vivo Amplification of the PAX3-FKHR and PAX7-FKHR Fusion Genes in Alveolar Rhabdomyosarcoma. *Hum Mol Genet.* 1996;5(1):15–21.
15. Sorensen PHB, Lynch JC, Qualman SJ, Tirabosco R, Lim JF, Maurer HM, et al. PAX3-FKHR and PAX7-FKHR gene fusions are prognostic indicators in alveolar rhabdomyosarcoma: a report from the children's oncology group. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2002;20(11):2672–9.
16. Marshall AD, Grosveld GC. Alveolar rhabdomyosarcoma – The molecular drivers of PAX3/7-FOXO1-induced tumorigenesis. *Skelet Muscle.* 2012;2(1):25.
17. Bennicelli JL, Advani S, Schäfer BW, Barr FG. PAX3 and PAX7 exhibit conserved cis-acting transcription repression domains and utilize a common gain of function mechanism in alveolar rhabdomyosarcoma. *Oncogene.* 1999;18(30):4348–56.
18. Fredericks WJ, Galili N, Mukhopadhyay S, Rovera G, Bennicelli J, Barr FG, et al. The PAX3-FKHR Fusion Protein Created by the t(2;13) Translocation in Alveolar Rhabdomyosarcomas Is A More Potent Transcriptional Activator than PAX3. *Mol Cell Biol.* 1995;15(3):1522–35.
19. Miller PJ, Hollenbach AD. The oncogenic fusion protein Pax3–FKHR has a greater post-translational stability relative to Pax3 during early myogenesis. *Biochim Biophys Acta BBA - Gen Subj.* 2007;1770(10):1450–8.
20. Bernasconi M, Remppis A, Fredericks WJ, Rauscher FJ, Schäfer BW. Induction of apoptosis in rhabdomyosarcoma cells through down-regulation of PAX proteins. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93(23):13164–9.
21. Margue CM, Bernasconi M, Barr FG, Schäfer BW. Transcriptional modulation of the anti-apoptotic protein BCL-XL by the paired box transcription factors PAX3 and PAX3/FKHR. *Oncogene.* 2000;19(25):2921–9.
22. Shern JF, Chen L, Chmielecki J, Wei JS, Patidar R, Rosenberg M, et al. Comprehensive Genomic Analysis of Rhabdomyosarcoma Reveals a Landscape of Alterations Affecting a Common Genetic Axis in Fusion-Positive and Fusion-Negative Tumors. *Cancer Discov.* 2014;4(2):216–31.
23. Eguía-Aguilar P, Ponce-Castañeda V, Nájera-García N, Nieto-Martínez K, Kofman-Alfaro S, Sadowinski-Pine S, et al. Detection of fusion genes in formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections of rhabdomyosarcoma by RT-PCR and fluorescence in situ hybridization in Mexican patients. *Arch Med Res.* 2010;41(2):119–24.
24. Maurer HM, Beltangady M, Gehan EA, Crist W, Hammond D, Hays DM, et al. The Intergroup Rhabdomyosarcoma Study-I. A final report. *Cancer.* 1988;61(2):209–20.
25. Rudzinski ER, Anderson JR, Chi YY, Gastier-Foster JM, Astbury C, Barr FG, et al. Histology, fusion status, and outcome in metastatic rhabdomyosarcoma: A report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer.* 2017;64(12).

26. Alderete G, Rodríguez R. Rabdomyosarcomas paratesticulares. Experiencia del Instituto Nacional de Pediatría en 38 años [Tesis]. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México; 2011.
27. Chen C, Dorado Garcia H, Scheer M, Henssen AG. Current and Future Treatment Strategies for Rhabdomyosarcoma. *Front Oncol.* 2019;9:1458.
28. Selfe J, Olmos D, Al-Saadi R, Thway K, Chisholm J, Kelsey A, et al. Impact of fusion gene status versus histology on risk-stratification for rhabdomyosarcoma: Retrospective analyses of patients on UK trials. *Pediatr Blood Cancer.* 2017;64(7).
29. Sebire NJ, Malone M. Myogenin and MyoD1 expression in paediatric rhabdomyosarcomas. *J Clin Pathol.* 2003;56(6):412–6.
30. Kumar S, Perlman E, Harris CA, Raffeld M, Tsokos M. Myogenin is a Specific Marker for Rhabdomyosarcoma: An Immunohistochemical Study in Paraffin-Embedded Tissues. *Mod Pathol.* 2000;13(9):988–93.
31. Cessna MH, Zhou H, Perkins SL, Tripp SR, Layfield L, Daines C, et al. Are Myogenin and MyoD1 Expression Specific for Rhabdomyosarcoma?: A Study of 150 Cases, With Emphasis on Spindle Cell Mimics. *Am J Surg Pathol.* 2001;25(9):1150–7.
32. Hibbitts E, Chi Y, Hawkins DS, Barr FG, Bradley JA, Dasgupta R, et al. Refinement of risk stratification for childhood rhabdomyosarcoma using FOXO1 fusion status in addition to established clinical outcome predictors: A report from the Children’s Oncology Group. *Cancer Med.* 2019;8(14):6437–48.