

112011



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

HOSPITAL DE ESPECIALIDADES

HOSPITAL DE ONCOLOGIA

**CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS Y FRECUENCIA DE
ALTERACIONES ESPECIFICAS EN LOS CROMOSOMAS 22,
7, 11, 21 DE LOS PACIENTES CON SARCOMAS DE EWING
Y TUMORES NEUROECTODERMICOS PRIMITIVOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

ESPECIALISTA EN ANATOMIA PATOLOGICA

P R E S E N T A :

DRA. MARIA ARGELIA ESCOBAR SANCHEZ

ASESOR DE TESIS: DRA. ISABEL ALVARADO-CABRERO

276263

No. Registro: 99-717-0020

MEXICO, D.F.

FEBRERO 2000



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



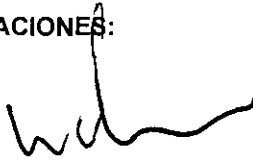
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

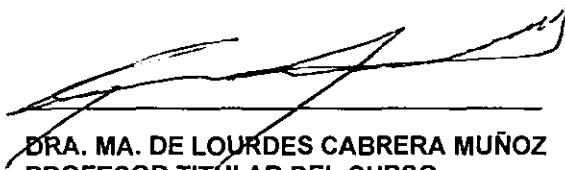
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

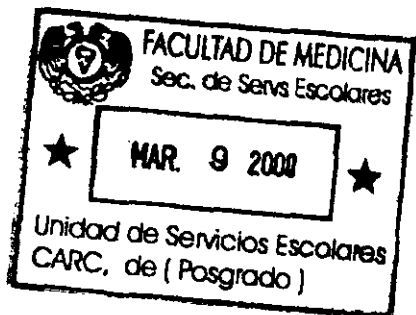
AUTORIZACIONES:



DR. NIELS H. WACHER RODARTE
JEFE DE LA DIVISION DE EDUCACION
E INVESTIGACION MEDICA



DRA. MA. DE LOURDES CABRERA MUÑOZ
PROFESOR TITULAR DEL CURSO



AUTORIZACION:

Dr. Serafin Delgado Gallardo
Jefe de la División de Enseñanza
e Investigación de Posgrado.
Hospital de Oncología CMN SIGLOXXI.

Serafin Delgado

Agradecemos al Dr. Antonio Llombart-Bosch Patólogo y Profesor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia España, su valiosa colaboración en el análisis molecular del presente trabajo, sin la cual; no hubiera sido posible su realización.

Agradecimientos

Con la mayor gratitud y amor a mis padres Argelia y Efrén ,por su inmenso cariño y apoyo incondicionales Y por ser el mejor ejemplo de superación y honestidad.

A Vero, Ale y Efrén por ser los mejores hermanos y a quienes quiero infinitamente.

A mis queridos tíos y primos: Lili, Lupina, China, Mar, Omar, Cris, Ivan y Maritza por el gran cariño que siempre me han tenido.

A Hugo por ser el mejor compañero y a quien quiero profundamente.

A mis queridas amigas: Ibon, Myriam, Rocío y Valeria, por todos los momentos compartidos.

A mi querida maestra: Dra Isabel Alvarado Cabrero.con profunda admiración y gratitud por haberme brindado su confianza y amistad.

A la Dra. Lourdes Cabrera Muñoz, porque gracias a ella, terminé la residencia.

Gracias Argelia.

INDICE

Introducción	Pág. 1-15
Material y Método	Pág. 16-17
Resultados	Pág. 18-22
Discusión y Conclusiones	Pág. 23-26
Bibliografía	Pág. 27-31

RESUMEN

El término tumor de células redondas y pequeñas, ha sido empleado para designar a un grupo heterogéneo de neoplasias frecuentes en niños y adolescentes. A pesar de su diferente histogénesis, éstas lesiones comparten características morfológicas de célula pequeña indiferenciada y primitiva.

La información clínica y examen histológico de rutina que incluyen tinciones con hematoxilina y eosina y tinciones para glucógeno, deben complementarse con estudio inmunohistoquímico; y en las lesiones menos diferenciadas, los estudios citogenéticos y genotípicos ayudan en gran medida al conocimiento de la estirpe y oncogénesis de éstas lesiones.

Del grupo de lesiones caracterizado por presentar célula pequeña, redonda y basófila, el Sarcoma de Ewing (SE) y Tumores Neuroectodérmicos Primitivos (TNEP) son las entidades más comunes y representan del 6 al 15% de todos los tumores malignos de hueso. Los primeros reportes que se tienen acerca de éstas lesiones, fueron hechos por el Dr. Arthur Purdy Stout en 1918 y por el Dr. James Ewing en 1921. Sesenta años después del caso inicial descrito por Stout, Nesbitt y Vidone, reportaron una lesión similar en el nervio ciático de un niño de 6 años a la que denominaron: Tumor Neuroectodérmico Primitivo. Posteriormente, Hart y Earle, propusieron el término TNEP para un grupo de neoplasias cerebrales frecuentes en niños y cuya composición celular recordaba a las células de la matriz del tubo neural embrionario.

En cuanto a las características clínicas de éstas lesiones, representan del 6 al 15% de todos los tumores malignos primarios de hueso, la edad de presentación, varía considerablemente, se han reportado casos en pacientes menores de un año hasta 81 años. En cuanto al sexo, existe una leve predilección por el sexo masculino con respecto al femenino con una relación de 1.5:1. Anatómicamente, tanto el SE como el TNEP, tienen predilección por el tórax y por la columna vertebral, así como por las diáfisis de huesos largos.

Las características radiológicas no son específicas, sin embargo, una lesión intramedular destructiva que afecta la diáfisis de huesos largos, con una gran masa a nivel de tejidos blandos, es muy sugerente de SE.

Entre las características macroscópicas más importantes de éstas lesiones, suelen presentarse como una masa blanco grisácea, intramedular con bordes bien definidos. La afección temprana a tejidos blandos adyacentes, es característica constante de los SE. Desde el punto de vista morfológico, éstas lesiones se caracterizan

por presentar un patrón homogéneo y monótono, en el cual se observan células redondas, con escaso citoplasma ligeramente eosinófilo y núcleos hiper cromáticos, con un patrón vascular característico donde los vasos adquieren configuración reticular y se encuentran rodeados de células neoplásicas que en una tinción de rutina con hematoxilina y eosina, presentan cromatina nuclear fina y nucleólos visibles.

Los estudios inmunohistoquímicos de éstas neoplasias pueden realizarse en tejido fijado en formol e incluido en parafina, y su uso es importante para facilitar el diagnóstico. Es bien conocido que existe una aberración cromosómica específica que consiste en una traslocación recíproca entre los cromosomas t(11;22) lo que se ha tomado en consideración para la utilización de anticuerpos como MIC2, el anticuerpo HBA-71 y el MoAb-2E7. Numerosos antígenos asociados con fenotipo neuroectodérmico como Enolasa Neurona Específica (ENE), Factor de necrosis tumoral, Proteína Ácido Glial Fibrilar y Proteína S-100, han sido reportados en TNEP. Por ultraestructura, los TNEP, muestran mayor grado de diferenciación neural y las células neoplásicas, están rodeadas por lámina basal incompleta, mientras que los SE tienen una diferenciación neural mínima. Por último, el análisis molecular de éstas lesiones permite establecer en los casos de difícil diagnóstico un diagnóstico certero, mediante la determinación de la traslocación cromosómica t(11; 22) mediante la técnica de hibridación in situ en tejido fijado en formol e incluido en parafina.

Recientemente, el pronóstico de los pacientes con SE y TNEP, ha mejorado considerablemente gracias al uso de la quimioterapia sistémica. Diversos estudios multiinstitucionales han reportado índices de supervivencia mayores de 50 a 60% en pacientes manejados con cirugía y quimioterapia. El uso de radioterapia, ha sido útil para el control primario sin embargo; la quimioterapia ha demostrado ser más efectiva tanto para el control local de la enfermedad como para las lesiones diseminadas. A pesar de esto, el tratamiento de elección sigue siendo la cirugía.

En el presente estudio, se incluyeron 30 pacientes con diagnóstico de SE y/o TNEP, los cuales fueron seleccionados de los archivos de patología del Hospital de Oncología del CMN Siglo XXI, de enero de 1988 a noviembre de 1999. Los datos clínicos que se investigaron de cada uno de los pacientes fueron; edad, sexo, localización, tamaño del tumor, tratamiento con quimioterapia previo a la toma de biopsia, tipo de tratamiento quirúrgico, tratamiento adyuvante y seguimiento. Los 30 casos incluidos en el estudio, fueron divididos en tres grupos: en el primer grupo se incluyeron 19 pacientes en los cuales el material se obtuvo antes del inicio de la quimioterapia, el segundo grupo; estuvo constituido por 6 casos con diagnóstico de SE

y/o TNEP periférico en donde el material se obtuvo después de la administración de quimioterapia, y el tercer grupo por los TNEP de localización central. Las características morfológicas que se evaluaron en cada grupo, fueron las siguientes: arquitectura, tamaño de la célula, presencia de necrosis, número de mitosis por diez campos de mayor aumento, y en los casos de TNEP de origen central, la presencia de rosetas.

El inmunofenotipo de la lesión, se investigó en 24 de los 30 casos, el panel de anticuerpos que se utilizó fue el siguiente: HKN-1, Proteína S-100, Enolasa Neurona Específica, el antígeno específico para SE y TNEP HBA-71, PGP 9.5, Citoqueratinas AE1-AE3, Actina y Vimentina. 24 de los 30 casos, fueron enviados al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valencia España para la determinación de las traslocaciones t(11;22), (9;22) y (7;22) mediante la técnica de hibridación in situ.

Los resultados que se obtuvieron fueron los siguientes: la edad promedio de los pacientes fue de 24.7 años y la media de 31 años, con un rango de edad de 1 a 61 años. El tamaño del tumor, osciló entre 10 y 48 cm de diámetro mayor, con una media de 29 cm. La localización más frecuente fueron: miembros inferiores (43.3%), seguida de miembros superiores (16.6%), y con menor frecuencia en iliaco, costillas, mediastino y abdomen. Los tumores de localización central representaron el 16.6%, dos fueron supratentoriales, uno de localización temporal derecha, otro se localizó en la fosa posterior y el restante en la calota.

Las características morfológicas más importantes fueron: en los 19 casos de localización periférica, el patrón de crecimiento más frecuente fue el difuso, seguido del sólido, y con menor frecuencia del alveolar. El tamaño celular que predominó fue el de célula intermedia, seguida de célula pequeña y por último de célula grande. De éste grupo únicamente uno de los casos tuvo más del 60% de necrosis y la mayoría (89.4%) presentaron menos de 5 mitosis por diez campos de mayor aumento.

Los seis casos en los cuales el material se obtuvo después de la administración de quimioterapia, presentaron características similares a las del grupo anterior, únicamente que en este grupo la presencia de necrosis fue mayor: lo que refleja la respuesta histológica al tratamiento.

Por último, los cinco TNEP de origen central, tuvieron características morfológicas peculiares. Dos de ellas presentaron abundantes rosetas tipo Homer Wright en más del 60% del material estudiado, característica que no se observó en las lesiones periféricas. El tamaño celular que predominó fue el de célula grande, en uno

de los casos con amplio citoplasma eosinófilo y características rabdoideas. En ninguno de los casos se observó necrosis y las mitosis fueron escasas en todos.

En cuanto al perfil inmunohistoquímico, los 8 tumores que fueron clasificados como SE, presentaron el siguiente perfil: todos fueron positivos para HBA-71, 7 para el anticuerpo PGP 9.5, 5 para ENE, al igual que la proteína S-100 y dos para HNK-1.

Los 7 tumores diagnosticados como TNEP periféricos, mostraron el siguiente inmunofenotipo: 7 fueron positivos para HBA-71, 4 para HNK-1, proteína S-100, PGP 9.5 y ENE. 3 lesiones de localización central fueron clasificados como TNEP centrales, y en éstos los anticuerpos HNK-1, Proteína S-100 y Enolasa Neuron Específica, fueron positivos en los tres casos. HBA-71 fue positivo en un caso y PGP 9.5 en dos. 3 lesiones, dos periféricas y una central metastásica, presentaron el siguiente perfil: las dos primeras fueron positivas para HNK-1, proteína S-100, ENE, y HBA-71 pero además mostraron inmunorreactividad para citoqueratinas, y la tercera únicamente fue positiva para ENE, Proteína S-100, además de Actina y Vimentina. Por último, en tres casos, no se obtuvieron resultados inmunofenotípicos debido a que el material fue catalogado como no valorable para este procedimiento.

Los mismos 24 casos evaluados por inmunohistoquímica, fueron estudiados por citogenética. De las ocho lesiones (33.3%) clasificadas como SE, 7 fueron negativas para EWS (87.5%) y las ocho fueron positivas para FLI-1. Los TNEP periféricos fueron negativos para EWS y positivos para FLI-1. Las lesiones centrales, diagnosticadas como TNEP-c, fueron positivas para ambas expresiones y una de ellas además para miogenin, la cual fue clasificada como TNEP-c con características rabdoideas. 3 lesiones no pertenecieron al grupo de TNEP, 2 de ellas fueron negativas para ambas expresiones y en base a sus características inmunofenotípicas (positividad para citoqueratinas y antígeno de membrana epitelial) fueron diagnosticadas como Sarcoma Sinovial en un caso y Sarcoma Sinovial con diferenciación neural en otro. El tercer caso, si presentó ambas expresiones, sin embargo; también fue positivo para miogenina además de que el perfil inmunohistoquímico demostró positividad para actina y negatividad para marcadores neuroectodérmicos, por lo que dicha lesión fue diagnosticada como Rabdiosarcoma Primitivo. Las tres lesiones restantes no pudieron ser evaluadas citogenéticamente debido a que el material no fue adecuado para la realización del método diagnóstico.

Los problemas diagnósticos en casos de TNEP y SE, giran en torno a la histogénesis y características moleculares de las lesiones. El primer tumor óseo descrito por Ewing, fue calificado con el término de endotelioma, posteriormente se propusieron

diversos términos para referirse a dicha lesión. Actualmente se acepta que estos tumores representan varios puntos del espectro clinicopatológico de una familia de tumores comunes. Sin embargo, el principal problema diagnóstico consiste en separar diversas entidades que no corresponden a la familia de tumores neuroectodérmicos, pero que desde el punto de vista morfológico, presentan características similares, entre los más frecuentes se encuentran los linfomas y rhabdomyosarcomas, que durante mucho tiempo han sido considerados diagnósticos diferenciales de los SE y TNEP. Sin embargo, en la actualidad, se han sumado distintas entidades como: variantes de célula pequeña de tumores de vaina nerviosa periférica, Tumor de Wilms blastemal y osteosarcomas de tipo indiferenciado. De tal forma que, resulta preciso establecer un protocolo de diagnóstico que incluya: características clínicas de la lesión, sitio primario de la lesión, patrón metastásico, características microscópicas, inmunohistoquímicas y citogenéticas.

En nuestro estudio, no hubieron diferencias morfológicas significativas entre los tres grupos de estudio, a excepción de la necrosis que se observó en el material obtenido después de la administración de quimioterapia y de la presencia de rosetas de Homer Wright en las lesiones de origen central, sin embargo el perfil inmunohistoquímico fue determinante en aquellas lesiones en las cuales existía duda acerca del diagnóstico, y el análisis citogénético esclareció el diagnóstico en tres lesiones que habían sido diagnosticadas morfológicamente como SE y TNEP.

De nuestro estudio, nosotros concluimos lo siguiente: a) los TNEP y SE, son dos neoplasias que pertenecen a un amplio grupo de lesiones de difícil diagnóstico debido a que comparten características morfológicas similares a las observadas en lesiones de histogénesis diferente, b) es importante seguir un protocolo de diagnóstico que incluya el estudio de las características clínicas, morfológicas, inmunofenotípicas y en casos especiales moleculares de este grupo de lesiones a fin de establecer un diagnóstico preciso, c) el establecer diagnósticos certeros, es de primordial importancia a fin de poder ofrecer tratamientos específicos para las distintas entidades, ya que de esto depende en gran medida la evolución de los pacientes que en su gran mayoría son niños y adolescentes.

Introducción

El término tumor de células redondas, pequeñas y basófilas ha sido empleado para designar a un grupo heterogéneo de neoplasias frecuentes en niños y adolescentes. A pesar de su diferente histogénesis, estas lesiones comparten características morfológicas que consisten en una densa proliferación de células pequeñas de apariencia indiferenciada y muy primitiva. La larga lista de neoplasias a considerar en este grupo comprende no solo entidades como rhabdomyosarcomas, linfomas y Tumores Neuroectodérmicos Primitivos; sino también tumores metastásicos y entidades recientemente descritas como tumores de células redondas con desmoplasia..(1,2,3,4)

La información clínica y examen histológico de rutina que incluyen tinciones con hematoxilina y eosina y tinciones para glucógeno y retículo, deben complementarse con estudio inmunohistoquímico para establecer un diagnóstico certero,(5) aunque en una considerable proporción de casos las características morfológicas son per se sugerentes de cierto tipo de tumores. En las lesiones menos diferenciadas, los estudios citogenéticos y genotípicos ayudan en gran medida al conocimiento de la estirpe y oncogénesis de estas lesiones.(1,2,3,4,5)

La exactitud en el diagnóstico de este grupo de lesiones, tiene relevancia clínica y pronóstica debido a que los diferentes protocolos terapéuticos deben aplicarse en forma específica siguiendo la línea de diferenciación celular.(6,7)

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Del grupo de neoplasias caracterizado por presentar células pequeñas redondas y basófilas, el sarcoma de Ewing (SE) y los Tumores Neuroectodérmicos Primitivos (TNEP) son las dos entidades mas comunes y representan del 6 al 15% de todos los tumores malignos de hueso. Estudios recientes han concluido que el SE y TNEP tienen el mismo origen neuroectodérmico y pertenecen a la misma familia de lesiones, que van desde formas menos diferenciadas (SE) a las mejor diferenciadas (TNEP).(1,2,3,4,5,8)

Los primeros reportes que se tienen acerca de estas lesiones, fueron hechos por el Dr. Arthur Purdy Stout en 1918 y por el Dr. James Ewing en 1921. El primero reportó el caso de un tumor localizado en el nervio radial de un hombre de 42 años de edad y el segundo el de una lesión osteolítica en el radio de una joven de 14 años de edad que se manifestó con una fractura patológica.(8)

Cuando Stout reportó su caso como un "tumor del nervio radial", diversos términos se utilizaron para designar dicha lesión, como schwannoma, neuroblastoma clásico y retinoblastoma. Fue hasta 1942, cuando Stout junto con Murray, describieron una lesión de células pequeñas en un hombre de 35 años de edad al que denominaron neuroepitelioma. Virtualmente todos los casos de TNEP reportados entre 1918 y 1942, fueron diagnosticados con relación a un nervio radial.

Sesenta años después del caso inicial descrito por Stout, Nesbitt y Vidone, reportaron una lesión en un niño de 6 años localizada en el nervio ciático, cuya histología consistía en una neoplasia compuesta de células hiper cromáticas dispuestas en rosetas de Homer Wright y pseudorosetas y llamaron a esta lesión "Tumor neuroectodérmico primitivo (neuroblastoma)." Posteriormente Hart y Earle, propusieron el término TNEP para un grupo de neoplasias cerebrales frecuentes en niños y cuya composición celular recordaba a las células de la matriz del tubo neural embrionario.(8,9)

Por otra parte, surgió la controversia acerca de la histogénesis y fenotipo del sarcoma descrito por Ewing después de su reporte original en el cual propuso un origen endotelial, dicho autor describió 6 casos adicionales que se presentaron en adolescentes con signos y síntomas sugerentes de osteomielitis y con tendencia a la afectación de la diáfisis de huesos largos. Otros autores sostuvieron la hipótesis de Ewing, pero Connor refutó su reporte inicial proponiendo un probable origen linfoide. El origen hematopoyético del SE fue una de las primeras sugerencias acerca de su histogénesis, y fue hasta 1971 cuando Yunis enumeró las diversas hipótesis propuestas para el origen de SE., definiendo a esta lesión sobre las bases de su presentación clínico patológica y conducta biológica estableciendo así su origen en células de la cresta neural. (8,9,10)

HISTOGÉNESIS

Formación de la cresta neural.

Los conocimientos acerca de los mecanismos principales de la regulación celular, migración, regulación y desarrollo, son muy limitados, sin embargo, se sabe que la formación de la cresta neural y la migración celular es en dirección anteroposterior al eje medial del embrión. Las células migran a través de movimientos ameboides, ya que poseen largos filopodios o pseudopodios. Los desmosomas intercelulares pueden ser vistos a través de ultraestructura y las proyecciones citoplásmicas están orientadas en sentido del movimiento celular.

Las células que se dirigen en extremo dorsolateral, producen células pigmentadas, en particular, en las regiones de la cresta neural troncal y el ectomesénquima cefálico. Las células que siguen el extremo medioventral, forman los ganglios espinales, el sistema nervioso autonómico y los paraganglios cromafines y no cromafines. Desde el inicio hasta el final de la migración, las diferentes células originadas en la cresta neural, se distribuyen en diferentes regiones siguiendo tres vías principales: 1) como células diseminadas en las superficies epiteliales. 2) agregadas en estructuras compactas en una matriz mixoide. 3) tejido mesenquimatoso. El concepto de que el SE se origina de células mesenquimatosas indiferenciadas con propensión a diferenciarse en células neurales, abre la posibilidad que ocasionalmente otras vías que tienen diferenciación neural pueden presentarse en tumor con características morfológicas de célula redonda y pequeña. Por otra parte, un concepto de diferenciación pluripotencial en tumores con componente de célula redonda y pequeña, similar al observado en SE, es en ocasiones designado como polihistioma o ectomesenquimoma. La revisión de grandes series de tumores de células pequeñas, muestra diferenciación neural, muscular y epitelial documentada inmunohistoquímicamente y confirmada por estudios de ultraestructura. Sin embargo, la presencia de alteraciones citogenéticas como la expresión del gene MIC2 confinado a áreas primitivas muestra el origen neuroectodérmico de éstas lesiones. (9)

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

El sarcoma de Ewing y los tumores neuroectodérmicos primitivos representan del 6 al 15 % de todos los tumores malignos primarios de hueso, es el más frecuente después del osteosarcoma y del condrosarcoma. La edad de presentación de los TNEP varía considerablemente, según cinco series reportadas en la literatura que engloban un total de 173 casos, el paciente más joven fue un recién nacido y el de mayor edad un hombre de 81 años. La edad promedio de presentación fue de 18 años. En cambio, el SE rara vez se presenta después de los 40 años, pero la edad promedio es similar a la encontrada en TNEP. En cuanto al sexo, existe una leve predilección por el sexo masculino con una relación de 1.5:1 con respecto al femenino.(8,10, 11,12)

Anatómicamente tanto el SE como los TNEP, tienen predilección por el tórax y la columna vertebral (50 a 60%) y por las diáfisis de los huesos largos de las extremidades (20 A 25%). En cuanto a las manifestaciones clínicas, estas lesiones suelen presentarse como masas de crecimiento rápido, generalmente son poco dolorosas y suelen manifestarse en muchos de los casos con fracturas patológicas secundarias a traumatismos. En series recientes, la frecuencia de pacientes cuya manifestación inicial son las metástasis, representan del 15 al 28% y esto parece ser un factor pronóstico adverso relacionado con escasa respuesta al tratamiento.. Las características radiológicas no son específicas, sin embargo una lesión intramedular destructiva que afecta la diáfisis de huesos largos, con una gran masa a nivel de tejidos blandos, es muy sugerente de Sarcoma de Ewing. La lesión, frecuentemente se acompaña de una prominente reacción perióstica que se dispone en capas (tela de cebolla) y la corteza que cubre la lesión, puede presentar esclerosis difusa y engrosamiento. La imagen de Resonancia Magnética y la TAC, permiten una evaluación preoperatoria más adecuada al mostrar grandes lesiones intramedulares que se extienden hacia áreas que no pueden observarse mediante las placas de rayos X. El Sarcoma de Ewing, puede presentar un defecto cóncavo en la superficie del hueso que típicamente se observa en lesiones predominantemente subperiósticas, más

frecuentemente visto en lesiones intramedulares en las cuales, la corteza es permeable y una masa en los tejidos blandos comprime la superficie externa de la corteza (4,8,10,11)

CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS

El Sarcoma de Ewing, se presenta como una masa blanco grisácea, intramedular con bordes bien definidos. El tumor puede afectar grandes segmentos de la cavidad medular sin romper la cortical, aunque la ruptura completa de ésta no es una característica típica de éstas lesiones, la corteza suele presentar pequeños grupos de células tumorales que finalmente la penetran y crecen hacia el subperiostio. La afección temprana de tejidos blandos adyacentes, es una característica constante de los sarcomas de Ewing. La formación de una gran masa extraósea, que frecuentemente excede el tamaño de la lesión intraósea, es frecuentemente observada.(1,4,8,9)

HISTOLOGÍA

Sarcoma de Ewing Convencional.

Se caracteriza por presentar un patrón monótono y homogéneo, en el cual se observan células redondas, con escaso citoplasma levemente eosinófilo y núcleos hipercromáticos, con un patrón vascular característico donde los vasos adquieren una configuración reticular y se encuentran rodeados de células neoplásicas que en la tinción con hematoxilina y eosina presentan cromatina nuclear fina y nucléolos visibles. Existen formas transicionales entre células claras y células oscuras; las primeras, presentan bordes bien definidos con abundante glucógeno y las segundas, corresponden a las células características antes descritas. , muestra células pequeñas, azul oscuro en la tinción de rutina con hematoxilina y eosina y en ocasiones células ovaladas. La cromatina nuclear es

fina con nucleolos aparentes. Existen formas transicionales, entre células oscuras y células claras, el citoplasma en ambos tipos es variable, pero generalmente escaso. Las células claras tienen bordes poco definidos con abundante glucógeno. La cantidad de necrosis es variable, y esto se observa en diferentes campos dentro de la misma lesión. (1, 4,8,10,11,13,14)

Existe otro patrón en el cual la extensión de tejidos blandos aunada a la presencia de fibroblastos y depósitos de colágena da el aspecto de filigrana. En este, grupos de células tumorales flotan en una densa matriz fibrilar junto con vasos hialinizados que dan lugar a una estructura morfológicamente relacionada a una lesión de alto grado de malignidad.(1,4)

Las células del sarcoma de Ewing, inducen la formación de vasos dentro del estroma, frecuentemente se observan capilares con endotelio fino y pericitos. Los vasos de paredes hialinizadas coexisten con campos que presentan patrón de filigrana rodeados por grupos de células tumorales. En cuanto al citoplasma, más del 80% de los tumores contienen glucógeno, que es positivo a PAS y carmín de Best.(1,4,8)

SUBTIPOS HISTOLOGICOS

Sarcoma de Ewing con diferenciación neuroectodérmica (TNEP de hueso).

Se caracteriza por presentar estructuras semejantes a rosetas de Homer Wright, como las que se observan en el neuroblastoma, los núcleos presentan cromatina densa y son redondos u ovalados. Se ha considerado que para llamarles TNEP deben encontrarse al menos un tercio de rosetas en el material estudiado.

Pueden encontrarse cambios citológicos como diferenciación rabdoide o histiocitoide, en la mayoría de los casos , la heterogeneidad celular junto con la variabilidad del tamaño celular, es la figura predominante en este patrón.(1,8,13)

Sarcoma de Ewing de células grandes atípico.

En 1952, McCormak , describió la presencia de variedades atípicas de Sarcoma de Ewing, en la que incluía la variedad de células grandes. La histología en estos casos, recuerda al SE convencional, sin embargo, la principal diferencia es observada en el tamaño y contorno de las células, las cuales miden entre 20 y 40 micras. El citoplasma es de apariencia histiocitoide y el glucógeno es menos abundante que en el SE convencional, asimismo, algunas lesiones pueden presentar cambios fusiformes focales , aunque éstas células no tienen la apariencia de las observadas en lesiones como fibrosarcoma e histiocitoma fibroso maligno. .(1,8,13)

Tumor Neuroectodérmico Primitivo.

Los TNEP, son menos frecuentes que el SE convencional, además de presentar características semejantes al anterior, tiene diferenciación neural primitiva. La diferenciación neural puede identificarse por microscopía de luz que revela la formación de rosetas de Homer Wright e inmunohistoquímicamente por la expresión de marcadores neurales, al igual que el SE, presenta una translocación recíproca a nivel de los cromosomas t(11;22)(q24;q22) resultando en la expresión de la proteína quimérica EWS-FL-1. La edad de presentación y la localización, es muy similar a la observada en SE. Microscópicamente, el tumor tiene todas las características del anterior, se compone de células redondas, pequeñas y basófilas, de aspecto primitivo mesenquimatoso. En los casos típicos la presencia

inequívoca de rosetas de Homer Wright, es una característica prominente y fácilmente reconocible, sin embargo, pueden presentarse otro tipo de rosetas como las observadas en el neuroblastoma y rosetas de Flexner Wintersteiner.

(1,8,13, 14,15)

Otros Tumores Neuroectodérmicos Primitivos.

- Tumor de Askin (región toracopulmonar).

En 1979, Askin presentó 20 casos de tumores de células redondas, pequeñas y basófilas localizados en la región toracopulmonar. Dichas lesiones derivan del periostio y de los tejidos blandos de la pared torácica Histológicamente la neoplasia es muy similar a los SE y TNEP y se compone de células pequeñas y homogéneas dispuestas en pseudolóbulos y en algunos casos en rosetas aisladas. Los estudios inmunohistoquímicos, muestran características fenotípicas idénticas a las que presentan los SE y TNEP. Ultraestructuralmente, presentan menor cantidad de mitocondrias , así como una apariencia mesenquimatosa más primitiva y gran cantidad de glucógeno dispuesto en estructuras rosetoides.

(1,4,8)

- Tumores neuroectodérmicos primitivos del SNC.

La frecuencia de tumores neuroectodérmicos en niños, sugiere la migración de células de neuroepitelio fetal a un sitio seleccionado donde se desarrolla una neoplasia. Las células neuroepiteliales fetales son del tipo de células neuronales, células de la neuroglia, células ependimarias y subependimarias. La patogénesis de éstas lesiones, probablemente es multifactorial y las alteraciones genéticas juegan un papel importante en el desarrollo de estos tumores. Las evidencias circunstanciales, sugieren que el primer fenómeno que desencadena estas alteraciones, es la promoción de células dañadas que producen una proliferación focal y su apariencia morfológica sugiere que pueden originarse en células

germinales o en elementos celulares mejor diferenciados del cerebro en desarrollo. En 1973 Hart y Garle, definieron al TNEP cerebral como una entidad clinicopatológica diferente al resto de los TNEP. Desde el punto de vista microscópico, estas lesiones se caracterizan por presentar grupos de células uniformes, pequeñas y primitivas que forman rosetas de Homer Wrigth. Más del 80 % de los casos se reportan en los hemisferios cerebrales y 10% alrededor del tercer ventrículo. (14,15,16)

CITOLOGÍA

El uso de aguja fina para la obtención de biopsias por aspiración, ha resultado efectivo en el diagnóstico de tumores de células redondas, pequeñas y basófilas, sin embargo ésta técnica no ha sido aplicada frecuentemente debido a que las biopsias directas proporcionan mayor cantidad de material lo que permite observar con mayor detalle las características arquitecturales de éstas lesiones. Los cambios citológicos más importantes en las biopsias por aspiración son: hiper celularidad con disposición de las células en grupos pequeños, los núcleos son ovales o ligeramente indentados con cromatina finamente granular. El citoplasma es claro o ligeramente basófilo. (17,18,19)

INMUNOHISTOQUÍMICA

Los estudios inmunohistoquímicos, se realizan en tejido fijado en parafina y su uso es importante para facilitar el diagnóstico de SE y TNEP dentro del grupo de lesiones de células redondas, pequeñas y basófilas. Es bien conocido que existe una aberración cromosómica específica que consiste en una traslocación recíproca entre los cromosomas 11 y 22 t(11; 22), lo que se ha tomado en

consideración para la utilización de anticuerpos como MIC2,, el anticuerpo HBA71 y el MoAb-2E7.(1,5,10,11,15,20)

El gene MIC2, es un gene pseudoautosómico localizado en el brazo corto de los cromosomas secuenciales. La expresión del gene MIC2, fue identificada usando el MoAb 12E7, sin embargo, ésta expresión también se ha encontrado en leucemias linfocíticas agudas y en timocitos paracorticales (11,15,20)

El SE y TNEP, expresan éste antígeno de manera selectiva y en forma importante hasta en el 80% de los casos.

La presencia de antígenos reconocidos por el anticuerpo Leu M2 en células de SE, ha sugerido la hipótesis de componente mesenquimal.

Numerosos antígenos asociados con fenotipo neuroectodérmico como Enolasa Neuronal Específica (ENE), HNK-1, Factor de necrosis tumoral, proteína S-100 y Proteína Acido Glial Fibrilar (PAGF), han sido reportados positivos en tumores neuroectodérmicos. La positividad de éstos anticuerpos varía de caso a caso y en varias zonas dentro del mismo tumor.El anticuerpo Leu 7, (HNK-), es una glucoproteína localizada en células de la cresta neural y se ha reportado como positiva en SE y TNEP. Sin embargo, la positividad está limitada a grupos de células y no a la totalidad del tumor, tal es el caso también de la PAGF que tiñe la mayoría de TNEP y SE, pero lo hace de manera difusa y no concluyente. Asimismo, la proteína S-100 es positiva sólo en células aisladas. (1,10,11,15,20)

MICROSCOPIA ELECTRÓNICA

Por ultraestructura, los TNEP, muestran mayor grado de diferenciación neural, las células neoplásicas están rodeadas por lámina basal incompleta. Las

características más específicas de diferenciación neural incluyen: uniones sinápticas, procesos neuríticos, filamentos intermedios, neurotúbulos y gránulos secretores, éstos últimos son gránulos con núcleo denso y un halo periférico.

Los SE están compuestos de células redondas a ovoides muy primitivas con escasa cantidad de citoplasma y abundante glucógeno. En algunos casos la población dimórfica de células claras y oscuras también tiene la cromatina en grumos con núcleos de bordes irregulares y citoplasma oscuro con alto índice de ribosomas. Cuando la evidencia de diferenciación neural es mínima, es más difícil concluir un diagnóstico, por lo tanto, el diagnóstico ultraestructural es de exclusión, basado más en los hallazgos negativos que en características específicas. (1,10)

ESTUDIOS DE GENÉTICA MOLECULAR

La identificación de cambios cariotípicos específicos a través de análisis citogenéticos, ha sido particularmente exitosa en el diagnóstico diferencial de tumores de células redondas, pequeñas y basófilas. La caracterización molecular de éstas aberraciones genéticas, ha sido de gran valor para el entendimiento de los mecanismos involucrados en su transformación maligna y progresión del tumor. Hasta hace poco tiempo, el estudio de las aberraciones cromosómicas, fue posible únicamente en células tumorales cultivadas in vitro y observadas en preparaciones citológicas en metafase. Actualmente, ha sido posible realizar el estudio molecular de células en tejido fijado en formol e incluido en parafina mediante técnicas de hibridación in situ y PCR.(2,21,22,23,24,25,26,27,28),

El grupo de tumores de probable origen neuroectodérmico, ahora referido como tumores de la familia de SE, presentan como marcador fenotípico la traslocación t(11;22)(q24;q12), dicha traslocación ha sido descrita en todos los miembros de éste grupo de lesiones, incluyendo Sarcomas de Ewing óseos, extraesqueléticos, y TNEP (Tumor de Askin, neuroblastoma, neuroepitelioma

periférico). Dicha traslocación, puede ser simple o compleja, afectándose uno o más cromosomas además del 11 y del 22, o bien una traslocación variante, en la cual el cromosoma 22 y un cromosoma distinto al 11 están afectados. De acuerdo a estudios de Carel y colaboradores, la presencia de traslocaciones simples $t(11;22)$, muestra que los puntos de rompimiento están localizados en dos regiones: EWSR1 y EWSR2, sobre los cromosomas 11 y 22 respectivamente. Como resultado de ésta traslocación la porción 5' del gene EWS sobre el cromosoma 22q12 está fusionada a la porción 3' del gene FLI-1 sobre el cromosoma 11q24. (1,21,22,23)

La fusión del gene EWS/FLI-1, está presente en el 85% de los TNEP y SE. Otro 10%, son portadores de una segunda traslocación $t(21;q12)$ la cual fusiona EWS a un miembro diferente de la familia de ETS, el gene ERG, localizado en la banda 21q22. Recientemente, una tercera traslocación ha sido identificada, es la $t(7;22)(p22;q12)$, que fusiona el gene EWS al gene ETS, dando lugar al gene ETVI (traslocación variante ETS), localizada en la banda cromosómica 7p22, FLI-1, ERG y ETVI son miembros del factor familiar de transcripción ETS, que encoda los activadores transcripcionales de secuencia específica y son conservados en la terminal C del ETS. Las translocaciones identificadas resultan en la fusión de la porción N-terminal del EWSR1 a la porción ETS de la familia de genes ETS. Recientemente, se ha reportado una traslocación $t(17;22)(q12;q12)$, en el DNA aislado de pacientes con SE. Este hallazgo sugiere que existe una nueva fusión del gene EWSR1-ETV4. (1,21,22,23,24)

El ETV4, es un gene de la familia ETS, localizado en el cromosoma 17q21, que codifica para el adenovirus E14, la comparación secuencial revela que ETV4, es un homólogo humano del gene P53 encontrado en ratones. El ETV4, ha sido implicado en células tumorales invasoras y metastásicas. Este estimula la transcripción de promotores de la matriz de metaloproteínas.

Por otro lado, los análisis moleculares de la traslocación cromosómica $t(11;22)$, muestran que el punto de rompimiento en el cromosoma 11 se encuentra en la región 40 -kb de FLI-1 entre los intrones 3 y 8. Cuando la $t(11,22)(q24;q14)$

fue citológicamente identificada, la estructura molecular del punto de rompimiento fue específica de los SE, sin embargo, diversas entidades como tumor de Askin y el resto de los TNEP periféricos, muestran la misma alteración citogenética.(1,21,22,23,24,25,26)

TRATAMIENTO

Recientemente el pronóstico de pacientes con SE localizados ha mejorado considerablemente gracias al uso de quimioterapia sistémica. Diversos estudios multiinstitucionales han reportado índices de sobrevida mayores de 50 a 60 % en pacientes manejados con cirugía y quimioterapia. El uso de radioterapia, por otro lado, ha sido útil para el control primario, sin embargo, la quimioterapia ha demostrado ser más efectiva tanto para el control local de la enfermedad como para las lesiones diseminadas, (29,30,31)

A pesar de esto, el tratamiento de elección sigue siendo la cirugía, actualmente los procedimientos quirúrgicos tienden a ser más conservadores, y pretenden evitar cirugías radicales como amputaciones y hemipelvectomías, sin embargo, los márgenes quirúrgicos deben ser adecuados para prevenir recurrencias locales, y metástasis, esto es más fácil de realizar en lesiones de localización distal y proximal y los márgenes inadecuados se observan con mayor frecuencia en lesiones de localización central. (29,30,31)

Las recurrencias locales se presentan en el 24% de los pacientes hasta 80 meses después del tratamiento, en cambio las metástasis se presentan en el 50 % en algunos casos aparecen durante el tratamiento y en otros hasta 100 meses después de la conclusión de éste. El pulmón, es el sitio principal de metástasis y en segundo lugar el hueso. Con los esquemas actuales que suelen utilizar 4 drogas, la toxicidad sistémica es mínima y las manifestaciones más frecuentes no son trascendentes como náuseas y vómitos que se presentan en más del 90 % de los pacientes. Las drogas más utilizadas que constituyen el cuádruple esquema

son: doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, y etopósido y han demostrado su eficacia en el tratamiento pre y postoperatorio de pacientes con SE, lo que permite observar el efecto preoperatorio en el tumor primario, y la relación entre la respuesta biológica y la evolución oncológica. En pacientes con SE la extensión de la necrosis tumoral es determinada histológicamente y es el factor pronóstico más importante en la evolución sistémica después de la quimioterapia. El tamaño del tumor también es un factor predictivo de respuesta al tratamiento, de tal manera que el estudio de éstas variables puede ayudar a establecer la predicción del pronóstico y evaluar mejores opciones de tratamiento.(29,30,31)

DIAGNOSTICO DIFERENCIAL DE TUMORES DE CELULAS REDONDAS DE HUESO.

Las características diagnósticas para SE y TNEP deben ser suficientes para realizar diagnósticos, en general, el diagnóstico diferencial de tumores de células redondas de hueso, no sólo incluye entidades del mismo grupo, sino también una variedad de tumores mesenquimatosos y epiteliales (primarios y metastásicos) que pueden presentarse en niños, adolescentes y adultos. (1)

El SE y TNEP, deben diferenciarse en niños y adolescentes de neuroblastoma metastásico, osteosarcoma de células pequeñas, condrosarcoma mesenquimal, rabdomiosarcoma y neoplasias hematopoyéticas. Los casos extremadamente raros de SE y TNEP que se presentan en adultos requieren diferenciación principalmente con carcinoma de células pequeñas y linfoma. (1,10, 32)

El neuroblastoma, típicamente se presenta en niños pequeños generalmente antes de los cinco años. El tumor frecuentemente metastatiza a hígado, hueso, ganglios linfáticos y piel, la enfermedad metastásica puede ser el signo de presentación de la enfermedad. Los niveles elevados de catecolaminas y sus metabolitos en la orina, son de gran ayuda diagnóstica. Histológicamente, la

presencia de neuropilo y diferenciación ganglionar ayuda a distinguir ésta lesión del SE y TNEP. Por otra parte, la diferenciación neural observada en SE y TNEP puede confundirse con neuroblastoma, sin embargo, la expresión del gene MIC2 es de gran ayuda ya que no se observa en el neuroblastoma., en éste las anomalías citogenéticas típicas se presentan en el cromosoma 1p32 en el 70% de los casos, y una segunda alteración se presenta como una amplificación del gene N-myc.(1,10,11,13,14,)

El SE y TNEP, puede confundirse también con osteosarcoma de células redondas y pequeñas, sin embargo, la principal característica de ésta lesión es la formación de osteoide e inmunohistoquímicamente y citogenéticamente no muestran las características de los primeros. (1,10,11)

El rhabdomyosarcoma de tipo embrionario, debe diferenciarse del SE especialmente si la lesión se encuentra en tejidos blandos y en niños pequeños. La positividad para marcadores de músculo deben ayudar al diagnóstico.

Los tumores de células redondas y pequeñas en pacientes adultos, deben orientar hacia un carcinoma metastásico de células pequeñas o hacia un linfoma ., ocasionalmente, el fibrosarcoma epitelioides esclerosante, el melanoma maligno, y la tenosinovitis villonodular, pueden semejar un tumor de células redondas, pequeñas y basófilas, sin embargo, las características inmunohistoquímicas y citogenéticas son de gran utilidad para la realización del diagnóstico diferencial. (1,10,11,13,33,34,35,36,37,38)

MATERIAL Y MÉTODO

En el presente estudio se incluyeron 30 pacientes con diagnóstico de Sarcoma de Ewing y/o Tumor Neuroectodérmico Primitivo, los cuales fueron seleccionados de los archivos del departamento de Patología del Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI, de enero de 1988 a noviembre de 1999. Se excluyeron aquellos pacientes que no contaron con expediente clínico o material histológico como laminillas o bloques de parafina.

Los expedientes clínicos de los 30 pacientes fueron obtenidos y de cada uno se investigaron los siguientes parámetros: edad, sexo, tamaño del tumor, localización del tumor, tratamiento con quimioterapia previo a la toma de biopsia, tipo de tratamiento quirúrgico, tratamiento adyuvante y seguimiento .

Los 30 casos incluidos en el estudio fueron divididos en tres grupos para la evaluación morfológica. En el primer grupo, se incluyeron los 19 pacientes en los cuales el material estudiado se obtuvo antes del inicio de la quimioterapia, el segundo grupo, estuvo constituido por los seis casos obtenidos postratamiento, y el tercer grupo por los cinco casos de Tumores Neuroectodérmicos Primitivos de localización central. Las características morfológicas que se evaluaron en cada grupo fueron las siguientes: arquitectura: alveolar, difusa o sólida; tamaño de la célula: de la célula: pequeña (20 micras), intermedia (entre 20 y 40 micras) y grande (más de 40 micras), presencia de necrosis valorada en grados: I = 0-30%, II = 30-60% y III = más del 60 %. En los seis casos obtenidos después de la administración de quimioterapia, la necrosis fue evaluada como respuesta histológica al tratamiento en 4 grados. I = necrosis en menos del 50% del tumor, II = necrosis en mas del 50 pero menos del 90% del tumor, III = necrosis en el 90% del tumor y IV = necrosis en el 100% del tumor. El número de mitosis fue valorado según el siguiente esquema: 1 a 5 mitosis por diez campos de mayor aumento, 5 a 10 mitosis por diez campos de mayor aumento y más de 10 mitosis por diez campos de mayor aumento.

El inmunofenotipo de la lesión, se investigó en 24 de los 30 casos, el panel de anticuerpos que se utilizó fue el siguiente. HNK-1, Proteína S-100, Enolasa Neurono Específica, el antígeno específico para SE y TNEP HBA-71, PGP 9.5, Citoqueratinas AE1-AE3, Actina y Vimentina.(tabla no. I)

24 de los 30 casos, fueron enviados al departamento de patología de la Facultad de Medicina y Odontología de la Universidad de Valencia España para la determinación de las traslocaciones $t(11,22)$, $t(9,22)$ y $t(7,22)$ mediante la técnica de hibridación in situ en tejido fijado en formol e incluido en parafina. Dicha técnica, consistió en la detección específica de secuencias de DNA o RNA en preparaciones celulares usando una secuencia de ácidos nucleicos, el primer paso, fue la desnaturalización del DNA, seguida del alineamiento de las primeras secuencias complementarias y finalizando con la extensión de las primeras bandas de DNA alineadas. Cada ciclo del procedimiento, fue repetido continuamente, a fin de duplicar la síntesis de DNA, posteriormente, las bandas de DNA y RNA, fueron observadas con peroxidasa, biotina y desoxigenina, en las cuales se observaron los puntos de rompimiento de los cromosomas involucrados y la fusión de los genes producto de dichas traslocaciones, dichas expresiones fueron recabadas y anotadas junto con la expresividad inmunofenotípica en cada uno de los 24 casos estudiados por estas técnicas.

RESULTADOS

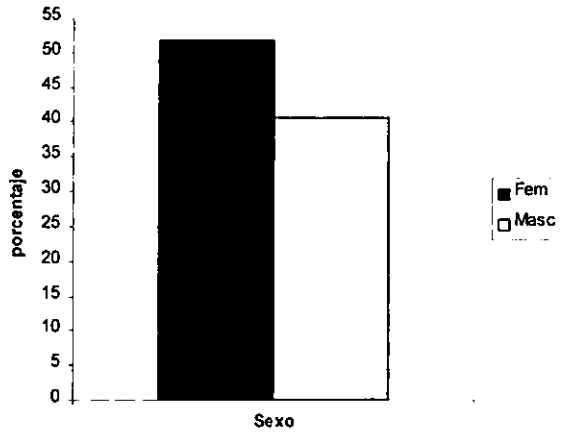
Pacientes

Las características clínicas de los 30 pacientes incluidos en el estudio, fueron las siguientes: 15 fueron mujeres (50%) y 15 fueron hombres (50%) (gráfica 1) La edad promedio fue de 24.7 años y la media de 31 años, con un rango de edad de 1 año a 61 años. El tamaño del tumor, osciló entre 10 y 48 cm de diámetro mayor, con una media de 29 cm. La localización más frecuente fueron: miembros inferiores en trece pacientes (43.3%), seguida de miembros superiores en cinco (16.6%) pacientes. Las localizaciones menos frecuentes fueron: iliaco 3 pacientes (10%), costillas, en dos pacientes (6.6%), mediastino, un paciente (3.3%) y abdomen en un paciente (3.3%). (gráfica 2)

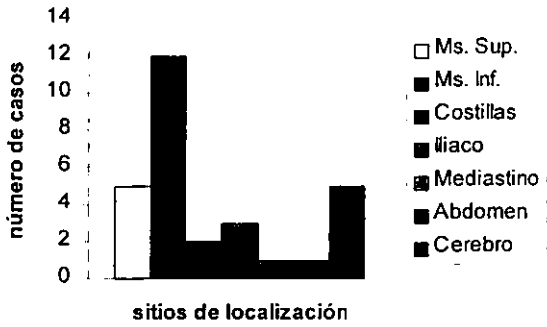
Los tumores neuroectodérmicos primitivos de localización central constituyeron el 16.6% y de éstos, dos fueron supratentoriales (40%), uno se localizó en lóbulo temporal derecho (20%), uno en fosa posterior (20%) y el restante en la calota (20%). De éstos, ninguno recibió tratamiento inicial con quimioterapia y en 4 (66.6%), el tumor se resecó parcialmente. De los 25 pacientes restantes, 5 (20%) fueron tratados con quimioterapia inicial y cirugía, en dos de ellos fue radical (40%) y en 3 conservadora (60%). 7 pacientes, (28%), recibieron únicamente quimioterapia, 1 paciente (4%) recibió quimioterapia inicial, resección del tumor y quimioterapia adyuvante. 3 pacientes (12%) únicamente fueron manejados con cirugía conservadora y 3(12%) con quimioterapia paliativa. Los seis pacientes restantes (24%), no recibieron ningún tratamiento debido a que no regresaron después de haberse establecido el diagnóstico. Los siguientes esquemas, VEC, ACT y ACF , y VP-16 y 4EPI, fueron los más frecuentemente utilizados. .

En cuanto al seguimiento: cuatro pacientes (13.3%), presentaron respuesta parcial al tratamiento inicial con quimioterapia, 6 pacientes (20%), presentaron metástasis pulmonares y además uno de éstos, presentó también metástasis

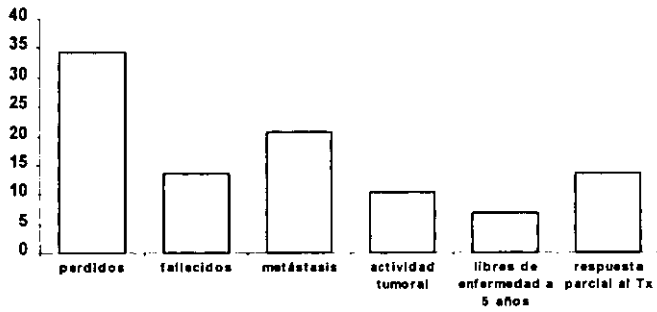
Distribución por sexos



Localización de SE y TNEP



Seguimiento de pacientes con SE y TNEP



cerebrales. 5 pacientes (16.6%), fallecieron dentro de los dos años posteriores al diagnóstico de SE y TNEP. 2 pacientes (6.6%), se encontraron libres de enfermedad a cinco años y 10 pacientes (33.3%), no acudieron al hospital después del tratamiento o del diagnóstico inicial, por lo que se desconoce su evolución. (gráfica 3)

HISTOLOGÍA

En los 19 casos de SE y TNEP de localización periférica, el patrón de crecimiento más frecuente, fue el difuso en 13 casos(68.4%), el alveolar se observó en 2(10.5%) y el sólido en 4(21.05%). El tamaño celular que predominó, fue el intermedio en 10(52.6%) casos, seguido del de célula pequeña en 8(42.10%) y de célula grande en 1 caso(5.2%). La presencia de necrosis en este grupo, se evaluó en porcentajes: 17(89.4%) casos, tuvieron entre 0 y 30% de necrosis, 1(5.2%) de 30 a 60% y el último caso de éste grupo tuvo más del 60% de necrosis. En 17 casos (89.4%), las mitosis observadas fueron de 0 a 5 x 10 campos de mayor aumento y en dos casos (10.5%) de 5 a 10 x 10 campos de mayor aumento. (tabla no. 1)

Los seis casos que fueron obtenidos después de la quimioterapia, presentaron las siguientes características. Dos casos (33.3%), fueron producto de cirugía radical y los dos fueron miembros pélvicos. En el primero de éstos dos casos, se observó un tumor que midió 30 cm de diámetro mayor, con amplias zonas de necrosis y hemorragia. En el segundo caso, se observó un tumor que midió 48 cm de diámetro y que también presentó zonas amplias de necrosis y hemorragia. En los 4 casos restantes, se obtuvieron productos de cirugía conservadora, entre éstos: iliaco, clavícula, tumor de tibia y una lesión mediastinal. El tamaño de la lesión en estos casos fue de; 35, 10, 15 y 17 cm de diámetro mayor respectivamente. En todas las lesiones se encontraron focos de necrosis y hemorragia, así como infiltración extensa a tejidos blandos (Fig. 1,2,3 y 4). Las características morfológicas más sobresalientes en éste grupo, fueron: patrón difuso en 5(83.3%) de los casos y en 1(16.6%), el patrón fue alveolar. El tamaño celular tuvo una distribución similar en las tres categorías, 2(33.3%) fueron de

Tabla 1

**CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS. CASOS PERIFERICOS PRETRATAMIENTO.
n=19 (100%)**

Célula	Patrón	Necrosis (%)	No. de mitosis x10 CMA	Rosetas (%)
Grande. n=1 (5.2%)	Difuso. n=13 (68.4%)	0-30. n=17(89.4%)	1-5. n=17 (89.4%)	0-30. n=19(100%)
Intermedia. n=10 (52.6%)	Alveolar. n=2 (10.5%)	31-60. n=1(5.2%)	5-10. n=2(10.5%)	31-60. n=0
Pequeña. n=8 (42.2%)	Sólido. n=4(21.05%)	Más de 60. n=1(5.2%)	Más de 10. n=0	Más de 60. n=0

Sarcoma de Ewing.
Características Radiográficas.

Fig. 1 y 2

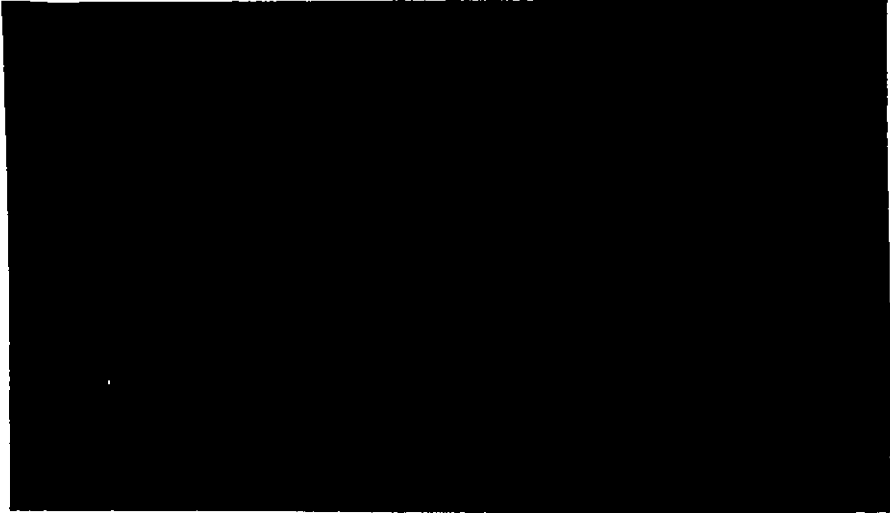


Fig. 1 Sarcoma de Ewing del esqueleto acral. Lesión destructiva del segundo hueso metatarsiano.

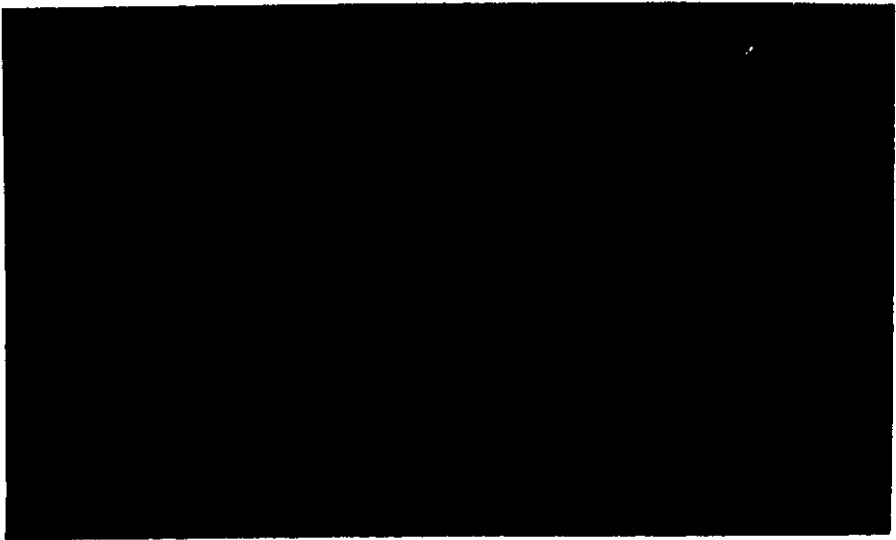


Fig. 2 Sarcoma de Ewing. Lesión destructiva del fémur. Reacción perióstica lamelar.

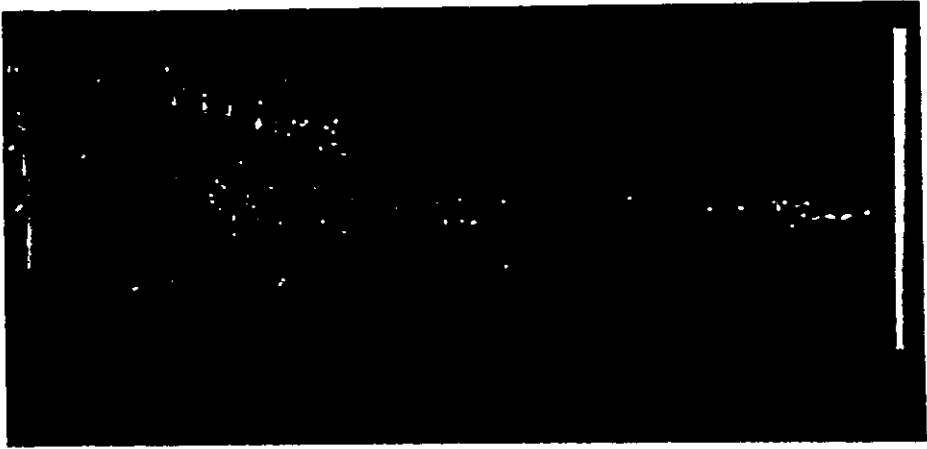


Fig. 3 Sarcoma de Ewing de tibia distal.



Fig. 4 Sarcoma de Ewing de tibia distal. Ruptura del periostio e infiltración a tejidos blandos.

Sarcoma de Ewing. Características histológicas.

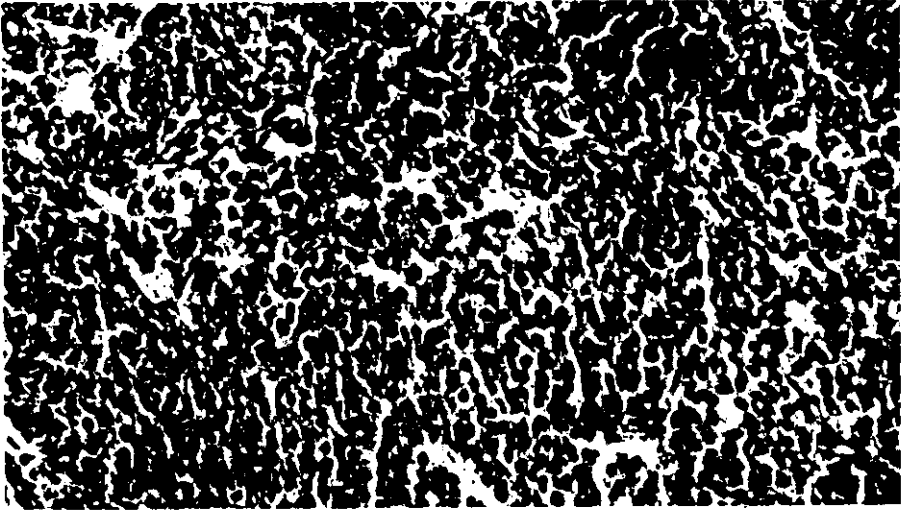


Fig. 5 Sarcoma de Ewing de célula grande, con patrón en nidos.

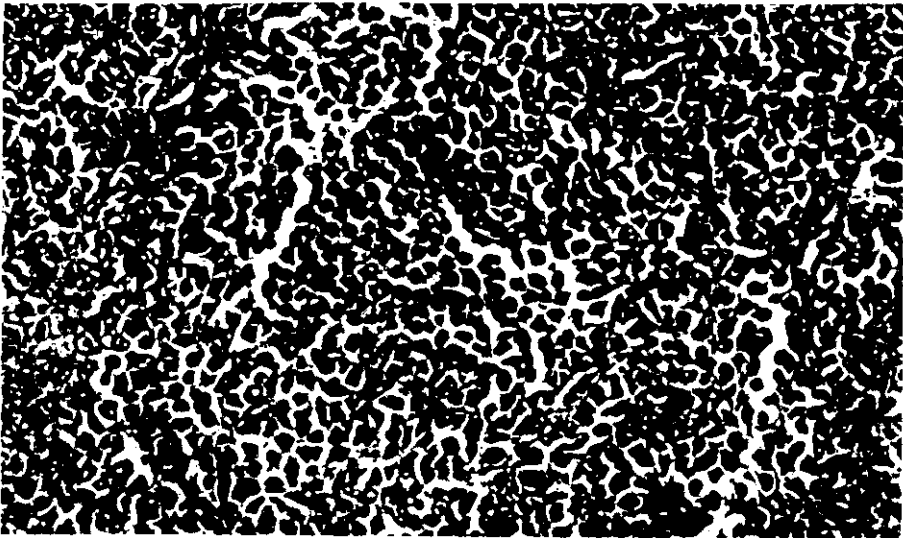


Fig. 6 TNEP central con diferenciación rabdomioblástica.

célula pequeña, dos (33.3%) de célula intermedia y 2 de célula grande. 4 lesiones (66.6%), presentaron de 1 a 5 mitosis x 10 campos de mayor aumento, 1(16.6%), de 5 a 10 mitosis x 10 campos de mayor aumento y el último caso de éste grupo tuvo más de 10 mitosis x 10 campos. La característica morfológica más importante en este grupo, fue la presencia de necrosis que refleja la respuesta histológica al tratamiento, y se resume en la tabla no. 2 (Fig.no.5)

Por último, los cinco Tumores Neuroectodérmicos Primitivos de localización central tuvieron características morfológicas peculiares. Dos de ellos (40%) mostraron abundantes rosetas tipo Homer Wright en más del 60% del material estudiado, característica que no se observó en las lesiones periféricas. El patrón arquitectural más frecuente fue el difuso en 3 casos (60%), en 1(20%) fue alveolar y en el último sólido. El tamaño celular que predominó, fue el de célula grande en 2 casos (40%), en uno de los cuales, la célula fue muy grande, con amplio citoplasma eosinófilo de características rabdoideas, y la célula pequeña también en dos casos (40%), solo en uno de ellos, la célula fue de tamaño intermedio. En ninguno de los casos se observó necrosis y las mitosis fueron escasas, de 0-5 x 10 campos de mayor aumento en todos los casos. (fig. no.6)

INUMNOHISTOQUIMICA

Los tumores 8 (33.3%) que fueron clasificados como SE, presentaron el siguiente perfil inmunohistoquímico: los 8 tumores (100%) fueron positivos para el anticuerpo HBA-71, 7 (87.5%) fueron positivos para el anticuerpo PGP 9.5. 5(62.5%) para Enolasa Neurono Especifica, al igual que para proteína S-100 y 2(25%) para HNK-1.(tabla no.3)

Los 7 tumores (29.1%) diagnosticados como TNEP periféricos mostraron el siguiente inmunofenotipo: 7(100%) fueron positivos para HBA-71, 4(57.1%) para HNK-1, 6(85.7%) para PGP 9.5 y el mismo número para Proteína S-100 y Enolasa Neurono Especifica. (tabla no. 4)

Tabla 2

Respuesta histológica a quimioterapia neoadyuvante
N=6(100%)

Grado de necrosis	N
I	3 (50%)
II	2 (30%)
III	1 (20%)
IV	0

Tabla no. 3 Perfil Inmunohistoquímico de Tumores Diagnosticados como SE. N= 8 (100%)

Anticuerpo	No. casos	%
HBA-71	7	87.5
PGP 9.5	5	62.5
ENE	2	25
Proteína S-100	2	25
HNK-1	2	2

Tabla. No.4 Perfil inmunohistoquímico de los TNEP periféricos. N=7(100%)

Anticuerpo	N= casos	%
HBA-71	4	57.1
HNK-1	6	85.7
PGP 9.5	6	85.7
ENE	6	85.7
PROTEINA S-100	6	85.7

3 lesiones de localización central fueron clasificados como TNEP centrales, (12.06%) y en éstos, los anticuerpos HNK-1, Proteína S-100 y Enolasa Neuron Específica, fueron positivos en los tres casos. HBA-71 fue positivo en un caso (33.3%) y PGP9.5 en dos (66.6%).

3 lesiones, dos periféricas y una central metastásica presentaron el siguiente perfil: las dos primeras fueron positivas para HNK-1, Proteína S-100, Enolasa Neuron Específica y HBA-71, pero además mostraron inmunorreactividad para citoqueratinas., y la tercera; únicamente fue positiva para Enolasa, Proteína S-100, además de Actina, Vimentina y. Por último, en tres casos (12.5%) no se obtuvieron resultados inmunofenotípicos debido a que el material fue catalogado como no valorable para este procedimiento.

ANALISIS MOLECULAR

Los mismos 24 casos evaluados por inmunohistoquímica, fueron estudiados citogenéticamente para la determinación de la expresión de los genes EWS y FLI-1 que resultan de la traslocación t(11-22). De las 8 lesiones (33.3%) clasificadas como SE 7, fueron negativas para EWS (87.5%), y las 8(100%) fueron positivas para FLI-1. Los TNEP periféricos fueron negativos para EWS 3(100%) y positivos para FLI-1. Las lesiones centrales, diagnosticadas como TNEP c fueron positivas para ambas expresiones y una de ellas además para miogenina, la cual fue clasificada como: TNEP c con características rabdoideas.

3 lesiones no pertenecieron al grupo de TNEP, 2 de ellas (8%) fueron negativas para ambas expresiones y en base a sus características inmunofenotípicas (positividad para citoqueratinas y antígeno de membrana epitelial) fueron diagnosticadas como Sarcoma Sinovial en un caso y Sarcoma Sinovial con diferenciación neural en otro. El tercer caso sí presentó ambas expresiones (SEW y FLI-1), sin embargo, también fue positivo para miogenina además de que el perfil inmunohistoquímico, demostró positividad para actina y

negatividad para marcadores neuroectodérmicos, por lo que dicha lesión fue diagnosticada como Rabdomiosarcoma primitivo (Fig. 7 y 8)

Las tres lesiones restantes(12%), no pudieron ser evaluadas citogenéticamente debido a que el material no fue adecuado para la realización de éste método diagnóstico.

Casos en los que se modificó el diagnóstico



Fig. 7 Rbdomiosarcoma metastásico en cerebro (morfología similar a linfoma)

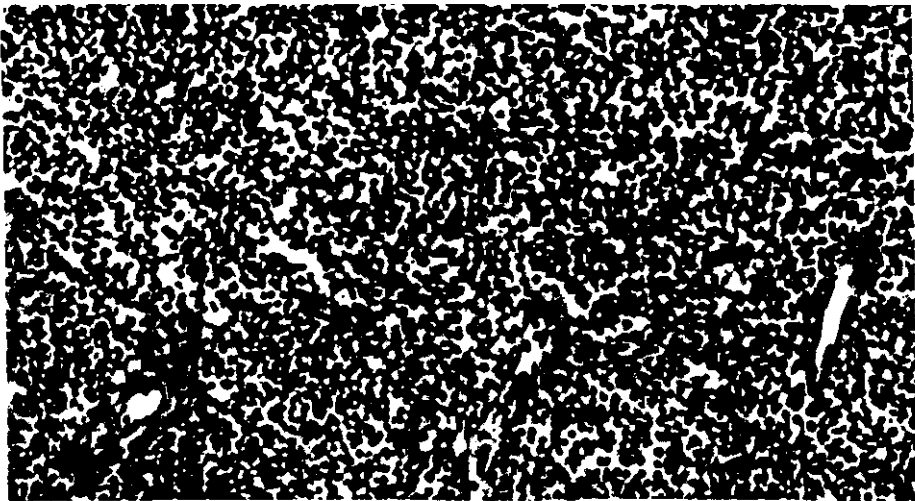


Fig. 8 Sarcoma sinovial con células pequeñas. (morfología similar a un sarcoma de Ewing).

Sarcoma de Ewing Postratamiento.

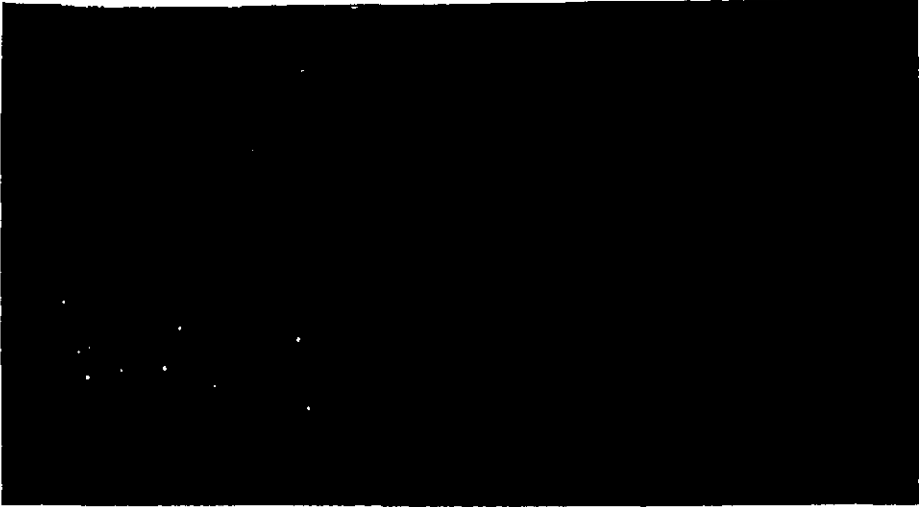


Fig. 9 Fémur proximal con resolución completa del tumor (necrosis)

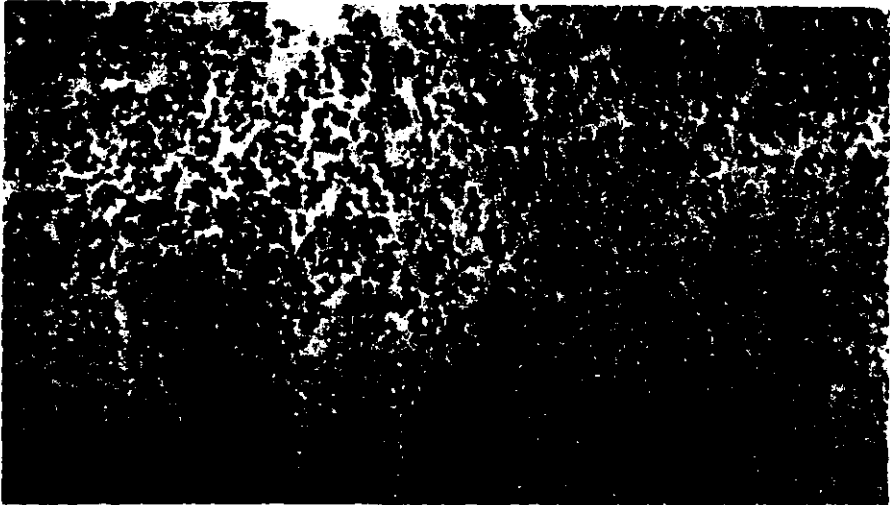
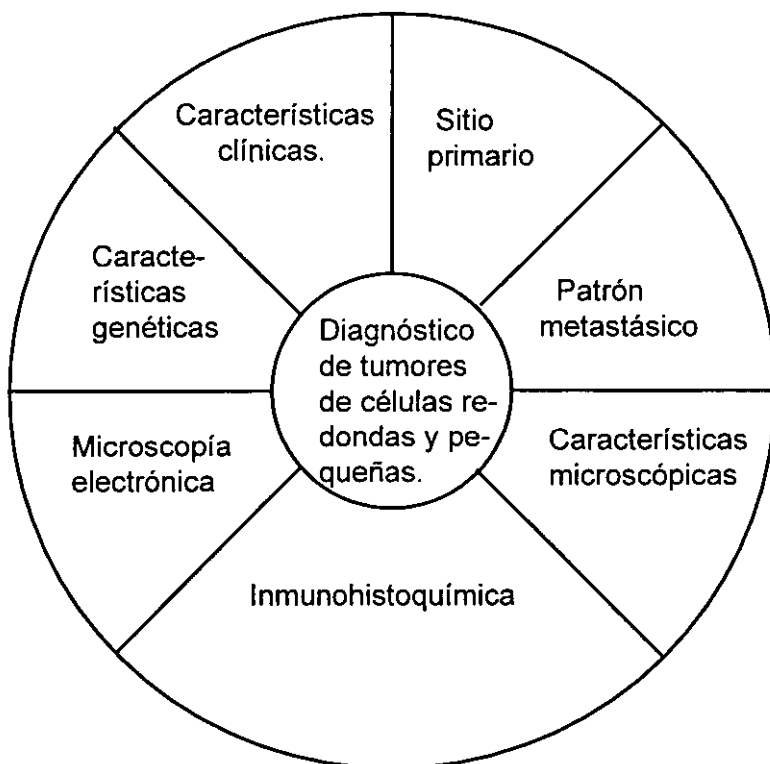


Fig. 10 Neoplasia con parches de necrosis (respuesta a la quimioterapia).

DISCUSIÓN

Los problemas diagnósticos en casos de SE y TNEP giran en torno a la histogénesis y características moleculares de éstas lesiones. El primer tumor óseo descrito por Ewing, fue calificado con el término de endotelioma, posteriormente se propusieron diversos términos para referirse a dicha lesión.(1,10) Actualmente se acepta que estos tumores representan varios puntos del espectro clinicopatológico de una familia de tumores comunes. Sin embargo; el principal problema diagnóstico consiste en separar diversas entidades que no corresponden a la familia de tumores neuroectodérmicos, pero que desde el punto de vista morfológico, presentan características similares (células redondas, pequeñas y basófilas).entre los más frecuentes se encuentran los linfomas y rhabdomyosarcomas, que durante mucho tiempo han sido los diagnósticos diferenciales de los SE y TNEP. Sin embargo, en la actualidad, se han sumado otras entidades como: variantes de célula pequeña de tumores de vaina nerviosa periférica, Tumor de Wilms blastemal y osteosarcomas de tipo indiferenciado. (tabla no. 9).(10,42) De tal forma que, resulta preciso establecer un protocolo de diagnóstico que incluya: características clínicas de la lesión, sitio primario de localización, patrón metastásico, características microscópicas, inmunohistoquímicas, ultraestructurales y moleculares. (gráfica no. 4)(10)

Los principales sitios primarios característicos para los tumores de células redondas, pequeñas y basófilas en el espectro básico convencional es el siguiente: a) neuroblastoma: adrenal, b) SE/TNEP: hueso, c) linfoma no Hodgkin: ganglios linfáticos y d) rhabdomyosarcomas: tejidos blandos. Los patrones metastásicos característicos son: a) ganglio linfático, hígado, órbita y hueso para el neuroblastoma, b) pulmón y ganglios linfáticos, para SE/TNEP y rhabdomyosarcoma y c) enfermedad generalizada, para los linfomas no Hodgkin. En cuanto a las características morfológicas, existen algunas que son distintivas, algunas de las cuales se muestran en la tabla no. 5



Gráfica no. 4 Diagnóstico de Tumores de células redondas y pequeñas.

Tabla no. 5. Tumores de Células Redondas y Pequeñas.

Espectro básico convencional:

- Neuroblastoma
- Sarcoma de Ewing/Tumor Neuroectodérmico Primitivo (SE/TNEP)
- Rabdomyosarcoma
- Linfoma no Hodgkin.

Tumores de reciente inclusión en este grupo.

- Tumor intraabdominal desmoplásico
- Osteosarcoma de célula pequeña
- Tumor de Wilms (Blastema)
- Tumor maligno de vaina nerviosa periférica
- Sarcoma sinovial

Uno de los puntos angulares en el diagnóstico de éstas lesiones, es la aplicación de un panel de anticuerpos completo que permita dilucidar en la mayoría de los casos su histogénesis. El perfil ideal, debe incluir marcadores para las diversas estirpes que morfológicamente pertenecen al grupo de tumores de células pequeñas, entre los más importantes: Antígeno leucocitario común, enolasa neuro específica, proteína S-100, miogenina, desmina, actina músculo específica, citoqueratinas y HBA-71. En nuestro estudio, se utilizaron la mayoría de éstos (a excepción del antígeno leucocitario común, que sólo fue determinado en un caso que había sido diagnosticado morfológicamente como linfoma) y en la mayoría de los casos (70.8%) la expresión inmunofenotípica, fue concordante con el diagnóstico histológico inicial. Sin embargo en cuatro lesiones, el perfil inmunofenotípico no correspondió al diagnóstico histológico, y la aplicación del panel completo de anticuerpos permitió establecer el diagnóstico correcto de éstas lesiones para las cuales el tratamiento inicial con quimioterapia debe ser específico, ya que dos casos diagnosticados por microscopia de luz como SE fueron en realidad Sarcomas Sinoviales, una lesión metastásica central diagnosticada como SE fue Rabdomiosarcoma Primitivo, y la lesión periférica diagnosticada como linfoma fue un SE. Asimismo, fue importante determinar la presencia de una lesión divergente (TNEP central con características rabdoideas), que histológicamente presentó características morfológicas concordantes pero que se comprobó mediante la positividad para miogenina.(39) Por otra parte, es necesaria la aplicación de un panel completo de anticuerpos, debido a que en ocasiones algunas lesiones resultan positivas para algunos marcadores que no son específicos (desmina, vimentina) lo que conduce a un diagnóstico temerario, de igual manera es necesario mencionar que en ocasiones el material resulta insuficiente o no adecuado para la valoración inmunofenotípica, y en estos casos es válida la acepción "tumor de célula redonda, pequeña y basófila" sin otra especificación, antes que aventurarse a concluir un diagnóstico incierto. (10)

El siguiente páso a seguir, es la determinación de las alteraciones moleculares que establecen el diagnóstico de certeza en casos en los cuales no es posible llegar a éste a través de las características clínicas, morfológicas e

inmunofenotípicas. Actualmente, es posible llegar a determinar estas alteraciones moleculares mediante técnicas que determinan la expresión de los genes EWS y FLI-1, resultantes de la traslocación t(11-22) en SE y TNEP, en tejido fijado en formol e incluido en parafina, lo cual resulta atractivo ya que éstas lesiones pueden evaluarse de manera retrospectiva. En nuestro estudio, fue importante la comprobación molecular de la mayoría de los casos, pero lo más trascendente, fue establecer diagnósticos de certeza en casos problema que por microscopía de luz e inmunohistoquímica, habían sido diagnosticados erróneamente como SE y TNEP.

En nuestro estudio, los 30 casos incluidos, fueron divididos en tres grupos, casos previos a la administración de quimioterapia, casos obtenidos después del tratamiento con quimioterapia y lesiones de localización central. No se observaron diferencias morfológicas importantes entre el grupo de lesiones periféricas biopsiadas antes del inicio de la quimioterapia y las obtenidas posterior a ésta. En los dos grupos, el patrón arquitectural predominante, fue el difuso, seguido del patrón sólido y por último del alveolar. asimismo, el número de mitosis fue similar en ambos grupos, encontrándose en la mayoría de las lesiones escasas mitosis (0-5 x 10 campos de mayor aumento). La diferencia morfológica más significativa entre ambos grupos, fue la presencia de necrosis, ya que ésta es un indicador de respuesta histológica al tratamiento, y es evidente que en este grupo la mayoría de las lesiones mostraron zonas necróticas extensas. Sin embargo, la expresión inmunofenotípica y molecular, no se vió modificada por la aplicación de quimioterapia, ya que las seis lesiones que pertenecieron a este grupo, expresaron los anticuerpos y los genes EWS y FLI-1 en forma similar al grupo de biopsias obtenidas pretratamiento. (31,40,41) (Fig. 9 y 10).

Por otro lado, los Tumores Neuroectodérmicos Primitivos de origen central, presentaron características morfológicas peculiares que las distinguieron de los dos grupos previos. En estas lesiones, fue importante la presencia de rosetas tipo Homer Wright, que se presentaron en 2 de 5 lesiones y en más del 60% del material estudiado, característica que no fue observada en ninguno de los tumores

periféricos diagnosticados como neuroectodérmicos primitivos o SE. Otra característica importante es que ninguna lesión presentó necrosis y el número de mitosis no excedió más de 5 x 10 campos de mayor aumento en ninguna de ellas.

CONCLUSIONES

- a) Los Tumores Neuroectodérmicos Primitivos y Sarcomas de Ewing, son dos neoplasias que pertenecen a un amplio grupo de lesiones de difícil diagnóstico debido a que comparten características morfológicas similares a las observadas en lesiones de histogénesis diferente.
- b) Es importante seguir un protocolo de diagnóstico que incluya el estudio de las características clínicas, morfológicas, inmunofenotípicas y en casos especiales moleculares de este grupo de lesiones a fin de establecer un diagnóstico preciso.
- c) El establecer diagnósticos certeros, es de primordial importancia a fin de poder ofrecer tratamientos específicos para las distintas entidades ya que de esto depende en gran medida la evolución de los pacientes que en la gran mayoría son adolescentes y adultos jóvenes.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Llobart-Bosch A, Contesso G y Pyedro-Olaya A. Histology, Immunohistochemistry, and Electron Microscopy of Small Round Cell Tumors of Bone. *Semin Diagn Pathol* 1996;13:153-170.
- 2) López Terrada D. Molecular Genetics of Small Round Cell Tumors. *Semin Diagn Pathol*.1996;13:242-249.
- 3) Delattre O, Zucman J, Melot T, Sastre X y cols. The Ewing Family of Tumors- A subgroup of small round cell tumors defined by specific chimeric transcripts. *N Engl J Med*.1994;331:294-299.
- 4) Terrier F, Llobart-Bosch A, Contesso G. Small Round Blue Cell Tumors in Bone: Prognostic Factors Correlated to Ewing's Sarcoma and Neuroectodermal Tumors. *Semin Diagn Pathol*.1996;13:250-257.
- 5) Moll R, Inchul L, Berndt R, y cols. Immunocytochemical Analysis of Ewing's Tumors. Patterns of Expression of Intermediate Filaments and Desmosomal Proteins Indicate Cell Type Heterogeneity and Pluripotential Differentiation. *Am J Pathol*.1987;127:288-304.
- 6) Bacci G, Toni A, Avella M, Manfrini M y cols. Long -Term results in 144 Localized Ewing's Sarcoma Patients Treated With Combined Therapy. *Cancer*.1989;63:1477-1486.
- 7) Delaney T, Tsokos M, Avila N, Steinberg S, y cols. Ifosfamide and Etoposide plus Vincristine, Doxorubicin, and Cyclophosphamide for Newly Diagnosed Ewing's Sarcoma Family of Tumors. *Cancer*.1996;78:901-911.
- 8) Dehner L. Primitive Neuroectodermal Tumor and Ewing's Sarcoma. *Am J Pathol*.1993;17:1-13.
- 9) Kissel P, André J.M, Jacquier A. The Neurocristopathies; 1981:1-35.
- 10) Joshi V, Balarezo F, Hics J y cols. Approach to Small Round Cell Tumors of Childhood. *Reviews*,2000;1:26-41.
- 11) Meis Kindblom J, Stenman G y Kindblom L. Differential Diagnosis of Small Round Cell Tumors. *Semin Diagn Pathol*.1996;13:213-241.
- 12) Cngir A, Vietti T, Gehan E, y cols. Ewing's Sarcoma Metastatic at Diagnosis. Results and Comparisons of Two Intergroup Ewing's Sarcoma Studies. *Cancer*.1990;66:887-893.

- 13) D'Amore E, y Ninfo V. Soft Tissue Small Round Cell Tumors: Morphological Parameters. *Semin Diagn Pathol.*1996;13:184-203.
- 14) Llombart-Bosch A, Lacombe JM, Contesso G, y Pyedro-Olaya A. Small Round Blue Cell Sarcoma of Bone Mimicking Atypical Ewing's Sarcoma With Neuroectodermal Features. An Analysis of five cases with immunohistochemical and electron microscopic support. *Cancer.*1987;70:1570-1582.
- 15) Navarro S, Cavazzana O, Lombart-Bosch A. y cols. Comparison of Ewing's Sarcoma of Bone and Peripheral Neuroepithelioma. An immunocytochemical and Ultrastructural Analysis of Two Primitive Neuroectodermal Neoplasms. *Arch Pathol Lab Med.*1994;118:608-615.
- 16) Hart NM y Earle K. Primitive Neuroectodermal Tumors of the brain in children. *Cancer* 1973;32:890-897.
- 17) Akhtar M, Ali A, Sabbah R y cols. Fine-Needle Aspiration Biopsy Diagnosis of Round Cell Malignant Tumors of Childhood. A combined light and electron microscopic approach. *Cancer.*1985;55:1805-1817.
- 18) Silverman J, Berns L, Holbrook T y cols. Fine Needle Aspiration Cytology of Primitive Neuroectodermal Tumors. A report of three cases. *Act cyto.*1992;36:541-550.
- 19) Joshi V, Silverman J, Altshuler G, Larkin E y cols. Systematization of Primary Histopathologic and Fine-Needle Aspiration Cytologic Features and Description of Unusual Histopathologic Features of Neuroblastic Tumors: A report From the Pediatric Oncology Group. *Hum Pathol.*1993;24:493-504.
- 20) Kawauchi S, Fukuda T, Miyamoto S y cols. Peripheral Primitive Neuroectodermal Tumor of the Ovary Confirmed by CD99 Immunostaining, Karyotypic Analysis, and RT-PCR for EWS/FLI-1chimeric mRNA .*Am J Pathol.*1998;22:1417-1422.
- 21) Stephenson C y Bridge J. Cytogenetic and Pathologic Aspects of Ewing's Sarcoma and Neuroectodermal Tumors. *Hum Pathol.*1992;23:1270-1277.
- 22) Monforte H, López Terrada D, Affendie M y cols. Documentation of EWS Gene Rearrangements by fluorescence In-Situ Hybridization in Frozen sections of Ewing's Sarcoma-Peripheral Primitive Neuroectodermal Tumor.*Am J Pathol.*1999;23:309-315.
- 23) Nicholson JC, Ross FM, Kohler and Ellison DW. Comparative genomic hybridization and histological variation in primitive neuroectodermal tumours. *British Journal of Cancer.*1999,80.1322-1331.

- 24) Ishida S, Yoshida K, Tanaka Y. Y cols. The genomic breakpoint and chimeric transcripts in the EWSR1-ETV4/E1AF gene fusion in Ewing sarcoma. *Cytogenet Cell Genet* 1998;82:278-283.
- 25) Noguera R. Cytogenetics and Tissue Culture of Small Round Cell Tumors of Bone and Soft Tissue. *Seminars Diagn Pathol.*1996;13:171-183.
- 26) Ambros I, Ambros P, Strehl S, y cols. MIC2 a Specific Marker for Ewing's Sarcoma and Peripheral Primitive Neuroectodermal Tumors. Evidence for a Common Histogenesis of Ewin's Sarcoma and Peripheral Primitive Neuroectodermal Tumors From MIC2 expression and Specific Chromosome Aberration. *Cancer.*1991;67:1886-1893.
- 27) Ewing's sarcoma and its congeners:an interim appraisal. *The Lancet.*1992;339:99-100.
- 28) Knezevich S, Hendson G, Mathers J y cols. Absence of detectable EWS/FLI-1 Expression after therapy-induced neural differentiation in Ewing sarcoma. *Hum Pathol.*1998;29:289-294.
- 29) Ozaki T, Hillmann A, Hoffman C y cols. Significance of Surgical Margin on the Prognosis of Patients with Ewin's Sarcoma. A report from the cooperative Ewing's Sarcoma study. *Cancer.*1996;78:892-900.
- 30) William R, Gilula L, Donaldson S y cols. Plain Radiograph and Computed Tomography Scan after Initial Treatment. A Pediatric Oncology Group Study. *Cancer.*1993;72:2503-2510.
- 31) Wunder J, Paulian G, Huvos A y cols. The Histological Response to Chemotherapy as a Predictor of the Oncological Outcome of Operative Treatment of Ewing Sarcoma. *The J bone J surgery.*1998;80:1020-1033.
- 32) Ozdemirli M, Fanburg J, Hartmann D.P y cols. Precursor B-Lymphoblastic Lymphoma Presenting as a Solitary Bone Tumor and Mimcking Ewing's Sarcoma. A report of four cases and Review of the Literature. *Am J Pathol.*1998;22:795-804.
- 33) Noguera R, Triche T, Navarro S y cols. Dynamic Model of Differentiation in Ewing's Sarcoma Cells. Comparative Analysis of Morphologic, immunocytochemical, and Oncogene Expression Parameters. *Laboratory Invest.*1992;62:143-150.
- 34) Hasegawa S, Davison J, Rutten A, y cols. Primary Cutaneous Ewing's Sarcoma. Immunophenotypic and Molecular Cytogenetic Evaluation of five cases. *Am J Pathol.*1998;22:310-318.
- 35) Marley E.F. y cols. Renal Primitive Neuroectodermal Tumor. *Am J Surg Pathol.*1997;21:354-359.

ESTA TESIS NO DEBE
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

- 36) Schmidt D, Herrmann C, Jürgens H. Y cols. Malignant Peripheral Neuroectodermal Tumor and Its Necessary Distinction from Ewing's Sarcoma. *Cancer*.1991;68:2251-2259.
- 37) Leuschner I, Radig K y Harms D. Desmoplastic Small Round Cell Tumor.*Semin Diagn Pathol*.1996;13:204-212.
- 38) Llombart-Bosch A, Carda C, Pyedro-Oiaya A y cols. Soft Tissue Ewing's Sarcoma. Characterization in Established Cultures and Xenografts With Evidence of a Neuroectodermic Phenotype.*Cancer*.1990;66:2589-2601.
- 39) Yachnis A.T., Rorke L.B. Biegel J.A. y cols. Desmoplastic Primitive Neuroectodermal Tumor with Divergent Differentiation. Broadening the Spectrum of Desmoplastic Infantile Neuroepithelial Tumors. *Am J Surg Pathol*.1992;16:998-1006.
- 40) Kadonaga T.J. y Grunstein M. Genetics & Development. *Current Biology*. 1998;9:R239-R231.
- 41) Rosito P, Mancini A, Rondelli R y cols. Italian Cooperative Study for the treatment of children and young adults with localized Ewing Sarcoma of bone. A preliminary report of 6 years of experience. *Cancer*.1999;86:421-428.
- 42) Folpe A, Rodney A, Chapman D y Gown A. Poorly Differentiated Synovial Sarcoma. Immunohistochemical Distinction From Primitive Neuroectodermal Tumors and High-Grade Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumors. *Am J Pathol*. 1998;22:673-682.
- 43) Hashimoto H. Kiryu H. Enjoji M y cols. Malignant neuroepithelioma (peripheral neuroblastoma). A clinicopathologic study of 15 cases. *Am J Surg Pathol*. 1983; 7:309-318.
- 44) De Vita V.T. The relationship between tumor mass and resistance to chemotherapy. Implications for surgical adjuvant treatment of cancer. *Cancer*.1983;51:1209-1220.
- 45) Dierick AM, Langlois M, Van P, y cols. The prognostic significance of the DNA content in Ewing's Sarcoma: A retrospective cytomorphometric and flow cytometric study. *Histopathology*.1993;23:333-339.
- 46) Nesbitt KA, y Vidone RA. Primitive neuroectodermal tumor arising in sciatic nerve of a child. *Cancer*.1976;37:1562-1570.
- 47) Cheung NYA, Khoo US, Chan KW. Intra-abdominal desmoplastic small round cell tumour. *Histopathology*.1992;20:531-534.

- 48) El Naggar AK, Ayala AG y cols. Synovial sarcoma. A DNA flow Cytometric study. *Cancer*.1990;65:2295-2300.
- 49) Ostrowski ML, Unni KK y Banks PM. Malignant lymphoma of bone. *Cancer* 1986,58:2646-2655.
- 50) González-Gómez I y Rowland JM. Inmunohistochemical panel for differential diagnosis of small blue cell tumors in childhood. *Mod Pathol*.1997;10:10-13.