



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD  
HOSPITAL DE PEDIATRIA CMN SXXI**

**“SOBREEXPRESION DE P53 Y SU ASOCIACIÓN  
CON LA HISTOLOGIA Y SOBREVIDA EN PACIENTES CON  
ASTROCITOMA”**

**TESIS PARA OBTENER EL TITULO DE MEDICO ESPECIALISTA EN  
PEDIATRIA MEDICA**

**TESISTA: DRA. LUPITA MENDOZA GALVÁN  
RESIDENTE 4º AÑO PEDIATRIA**

**TUTOR: DR. JAVIER ENRIQUE LOPEZ AGUILAR  
MÉDICO ONCÓLOGO PEDIATRA  
HOSPITAL PEDIATRÍA CMN SXXI**

**ASESOR METODOLÓGICO : DRA. ANA CAROLINA SEPÚLVEDA  
VILDÓSOLA**

**COLABORADORES**

- DRA. GEORGINA SIORDIA REYES  
MÉDICO PATÓLOGO ADSCRITO A UMAE HP CMN SXXI
- DR. IGNACIO FELIX ESPINOZA  
MÉDICO NEUROPATOLOGO ADSCRITO HOSPITAL ESPECIALIDADES  
CMN SXXI
- FRANCISCO JAVIER GARCIA VAZQUEZ MC  
HISTOTECNÓLOGO LABORATORIO PATOLOGIA MOLECULAR INP

**MEXICO, D.F.  
JUNIO 2010**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

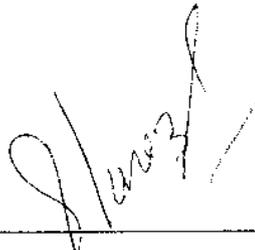
**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**

**“SOBREEXPRESION DE P53 Y SU ASOCIACIÓN CON LA HISTOLOGIA Y  
SOBREVIDA EN PACIENTES CON ASTROCITOMA”**

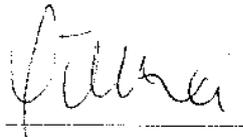


---

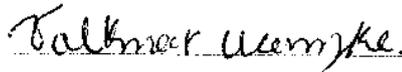
**Dr. Enrique López Aguilar**

**Médico Oncólogo Pediatra Adscrito a UMAE HP CMN SXXI  
Tutor de Tesis**

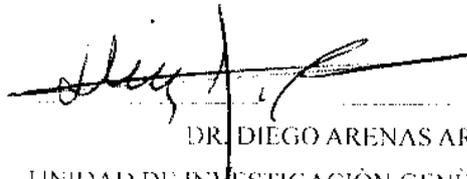
**"SOBREEXPRESION DE P53 Y SU ASOCIACIÓN CON LA HISTOLOGIA Y  
SOBREVIDA EN PACIENTES CON ASTROCITOMA"  
HOJA FIRMA SINODALES**



.....  
DRA. ANA CAROLINA SEPÚLVEDA VILDÓSOLA  
JEFE DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD HP CMN SXXI



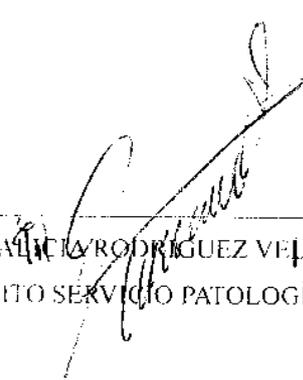
.....  
DR. VOLKMAR WANZKE DEL ANGEL  
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO ONCOLOGIA HP CMN SXXI



.....  
DR. DIEGO ARENAS ARANDA  
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN GENÉTICA HP CMN SXXI

.....  
DR. HÉCTOR GONZALEZ CABEILLO

MEDICO TITULAR CURSO ESPECIALIDAD PEDIATRIA MEDICA HP CMN SXXI



.....  
DRA. ALICIA RODRIGUEZ VELASCO

MÉDICO ADSCRITO SERVICIO PATOLOGÍA HP CMN SXXI

## AGRADECIMIENTOS

---

A Quien me ha brindado una gran oportunidad de vida y no conforme con ello, me ha hecho vivirla en compañía.

A unos Padres tan geniales que han saboreado mis logros, han hecho ligeros mis momentos difíciles, por el inmenso amor que siempre me han hecho sentir y por todo el sacrificio realizado por mi, por ese ejemplo de vida, de amor y bondad de mi madre; por el ejemplo de lucha incansable, fortaleza, temple y entrega que me ha heredado mi padre. Gracias por darme siempre la oportunidad de lograr mis sueños y hacerlos suyos. Gracias por permitirme tener la certeza de que siempre estarán conmigo.

Gracias Vero, Beto, Fer, Astrid, Oscarín por sus palabras de aliento y ánimo, por entenderme todas esas veces que debía estar ahí y no fue así, por estar tan pendiente de mi.

A la persona a la que mi Ser Superior me unió bajo el sacramento de matrimonio y que desde entonces está en cada uno de los pasos que doy porque los da conmigo. Gracias por complementar mi vida con tu amor, cariño, paciencia, apoyo, palabras, esperanza y también porque me haces sentir tan importante. Algún día estaremos juntos nuevamente,,,,,,,,.

A mis amigos, con quien compartimos logros, momentos de felicidad, lágrimas, esfuerzos, gracias. Los quiero.

Gracias Dr. Enrique López por esta gran oportunidad, apoyo y entusiasmo, gran paciencia, porque ha contribuido tanto a que yo pueda alcanzar uno de los más importantes y anhelado objetivo en mi vida, ser Pediatra.

A mis grandes maestros gracias por dar dirección y ayudarme a utilizar sus enseñanzas con el fin de lograr el objetivo, el bien de un niño. Gracias a aquellos que además me dieron grandes enseñanzas de vida y me hicieron descubrir incluso capacidades, cualidades y debilidades que desconocía en mí. Siempre los recordaré.

A nuestra noble y hermosa herramienta de trabajo; *los niños*, porque gracias a ellos he podido aprender, entender, sufrir con y por ellos, por las enseñanzas de vida y fortaleza, por sus sonrisas que me recordaban a diario que valía la pena estar aquí, por sus lágrimas que me recordaban que no debo perder la empatía y la compasión y nunca estar tranquila hasta brindar lo mejor de mí. Gracias a estos niños he aprendido que la vida puede acabar en un minuto y que debo vivirla con todos los sentidos alertas para saborear cada instante para que cuando termine mi ciclo pueda irme sabiendo que no hay nada más que pueda desear.

## INDICE

---

|                            |    |
|----------------------------|----|
| Resumen                    | 3  |
| Antecedentes               | 8  |
| Justificación              | 21 |
| Planteamiento del problema | 22 |
| Objetivos                  | 23 |
| Hipótesis                  | 23 |
| Material y Métodos         | 24 |
| Resultados                 | 32 |
| Discusión                  | 37 |
| Bibliografía               | 39 |
| Anexos                     | 42 |

## RESUMEN

---

**Autores:** L Mendoza Galván, E López Aguilar, C Sepúlveda Vildósola. Sobreexpresión de p53 y su asociación con la histología y sobrevida en pacientes con astrocitoma.

### Introducción

En el Hospital de Pediatría, la sobrevida de pacientes con astrocitoma de alto grado es de menos del 56% a 24 meses. Su incidencia anual se ha calculado aproximadamente en 24.5 por millón en EU y de 17 por millón en México. Uno de los factores pronósticos que juega un papel fundamental es la expresión de la molécula p53, una proteína apoptótica que al presentar mutaciones en su estructura condicionan su sobreexpresión, alterando la regulación del ciclo celular y predisponiendo así a una progresión y proliferación celular desmedida con el desarrollo de neoplasias con un mayor grado de malignidad y peor pronóstico.

### Planteamiento del problema

Qué pronóstico tienen aquellos pacientes en edad pediátrica con astrocitoma que muestran sobreexpresión de p53 comparado con aquellos que no lo sobreexpresan?

### Objetivos

Determinar si existe asociación entre la sobreexpresión de p53 con la sobrevida de pacientes con astrocitoma de bajo y alto grado.

### Material y métodos

Se realizó un estudio ambilectivo, longitudinal, observacional, comparativo, con una cohorte, se revisaron expedientes clínicos de pacientes con astrocitoma diagnosticados durante un periodo comprendido entre enero 1995 a diciembre 2009. Se realizó inmunohistoquímica a los cortes obtenidos de bloques de parafina y tejido tumoral fresco mantenido en congelación para determinar la expresión de p53, considerando como sobreexpresión cuando más del 50% de las células por campo de los campos leídos mostraron inmunorreactividad, dividiendo a los pacientes en dos grupos, los que lo sobreexpresaron y los que no lo sobreexpresaron para compararlos y evaluar el pronóstico de los pacientes.

### Resultados

Se incluyeron 35 pacientes, 18 niñas y 17 hombres. La media de edad al momento del diagnóstico fue de 70.4 meses, 4 pacientes fueron menores de 3 años de edad. De acuerdo a localización, 13 (37.1%) fueron infratentoriales, 12 (34.3%) supratentoriales

y 10 (28.6%) de tallo cerebral. Predominaron los astrocitomas de bajo grado, 23 pacientes (65.7%), en tanto que, nueve pacientes (25.7%) tuvieron astrocitoma anaplásico y 3 (8.6%) glioblastoma multiforme. Viven actualmente 21 (60%) pacientes. La sobrevida media global fue de 32 meses (2-169 meses). Con respecto a la sobreexpresión de p53 un 65.7% (23 pacientes) fueron negativos para la expresión de éste, de los cuáles, 16 (69.5%), están actualmente vivos Vs 5 (41.6%) de 12 pacientes que si sobreexpresaron p53 ( $p=0.109$ ). La sobrevida para los pacientes que no sobreexpresaron p53 fue de 69.5% a 120 meses, contra 40% a 120 meses para aquellos con sobreexpresión de p53. El riesgo (RR) de desarrollar glioblastoma multiforme cuando existe sobreexpresión de la proteína p53 es de 4.4 (0.356 – 54.36).

### **Conclusiones**

Dado que la sobrevida en aquellos pacientes que sobreexpresan p53 es menor, es necesario que en todo paciente con astrocitoma se realice determinación de expresión de p53 en tejido fresco al menos mediante inmunohistoquímica y en caso positivo, dar un tratamiento más agresivo.

## ANTECEDENTES

---

### EPIDEMIOLOGÍA

---

Los tumores cerebrales representan el tipo de tumor sólido más frecuente en la edad pediátrica <sup>1,2</sup>, siendo la segunda neoplasia más frecuente en general, después del grupo de las leucemias y linfomas. De éstos, los de mayor incidencia son los de origen glial (70%), de los cuáles, los astrocitomas abarcan el mayor número de casos. La máxima incidencia reportada es a la edad de 8 años. La incidencia anual se ha calculado aproximadamente en 24.5 por millón en EU y de 17 por millón en México<sup>1,3</sup>. Son más frecuentes en los hombres, en la raza blanca y aparentemente en el medio urbano<sup>1,2</sup>. Casi el 20% de los tumores infantiles suceden en lactantes y niños menores de 3 años de edad <sup>4,5</sup>.

En México, la tasa de incidencia del cáncer en edad pediátrica es del orden de 136 por millón por año, con evidencia clara de tendencia al incremento y, de acuerdo a la tasa mencionada, en México debieran diagnosticarse aproximadamente 1,700 casos de tumores de SNC por año pero lo que en realidad se encuentra es que la frecuencia de detección o su reporte es mucho más baja, de tal forma que los casos que se están atendiendo son menores al número real de casos.

El perfeccionamiento y mayor accesibilidad a los métodos diagnósticos de imagen ha ido cambiando la incidencia registrada. Así un mayor acceso a IRM y TC pudo haber incrementado el diagnóstico de algunos tumores pequeños que de otra manera, habrían permanecido indetectables <sup>6</sup>.

Los resultados en el grupo de menos de 3 años de edad han sido bastante menos favorables comparados con otros niños, pues a menudo son considerables en sus dimensiones y con frecuencia representan los histiotipos malignos y con una mayor probabilidad de afección metastásica al momento del diagnóstico.

Los tipos de tumor del SNC más frecuentes en nuestro país son los que derivan de las células de la glia hasta en un 60%, siendo los astrocitomas los de mayor incidencia.

A pesar de los abordajes terapéuticos agresivos, los resultados de niños con gliomas de alto grado permanecen sombríos; con una sobrevida a largo plazo que va de 56% a 18 meses para aquellos tumores supratentoriales y de menos del 10% para los gliomas difusos de tallo <sup>7</sup>.

## ETIOPATOGENIA

---

La gran mayoría de las neoplasias de SNC son esporádicas, solo un pequeño porcentaje están asociados con desórdenes genéticos hereditarios. Los pacientes que presentan esta predisposición genética para el desarrollo de tumores del SNC cursan con entidades o síndromes como neurofibromatosis tipo 1 y 2, esclerosis tuberosa y síndromes con poliposis adenomatoidea entre otras. Esta asociación sindrómica con el desarrollo de tumores del SNC ocasiona el 1-2% del total de las neoplasias. El síndrome de Li-Fraumeni, de carácter familiar, se ha asociado con una alta predisposición para desarrollar tumores cerebrales y específicamente asociado con mutaciones en el gen de p53.

Cada tipo de tumor tiene su propio comportamiento biológico y su pronóstico es determinado por factores de riesgo como su localización, edad al momento del diagnóstico, capacidad infiltrativa local y a distancia, porcentaje de resección tumoral lograda y forma de respuesta al tratamiento, presencia de alteraciones genéticas, índice de mitosis y proliferación entre otros de tipo imagenológico e histopatológico<sup>8</sup>. Las posibilidades de supervivencia han mejorado gradualmente en los últimos 30 años pero aún permanecen bajas. La tasa de supervivencia después del diagnóstico de tumor cerebral depende de la edad del paciente, del subtipo histopatológico y el estadio del tumor y síntomas presentes.

Se conoce bien la influencia y efecto que tienen ciertos agentes físicos y biológicos considerados potencialmente neurocancerígenos, pues estos pueden dañar el DNA o bien, funcionar como detonantes para la expresión de un disturbio genético ya presente pero latente y desarrollar una neoplasia. Las radiaciones ionizantes, bien identificadas como factores asociados al desarrollo de neoplasias del SNC, incluso manejadas a dosis terapéuticas. Diferentes virus como los retrovirus, papovavirus y adenovirus se han relacionados con tumores cerebrales en estudios con animales de experimentación, en cuyos tejido tumoral se encontraron secuencias de DNA virales.

Actualmente se sabe cada vez más sobre la participación de cambios epigenéticos en el cáncer que afectan la expresión de algunos genes pero que pueden permanecer en estado latente durante toda la vida de la célula.

*La mayoría de los cánceres se deben a cambios genéticos inducidos por mutaciones.* Estas mutaciones del genoma inducidas por agentes de muy variada naturaleza o por

errores espontáneos en la replicación y reparación del DNA, afectando esencialmente a genes de dos tipos: los protooncogenes y los genes oncosupresores. El resultado de la mutación es la expresión de proteínas alteradas, sobreexpresión de proteínas normales o no expresión de éstas. ***Cualquiera de éstos efectos modifica funciones celulares tan básicas como el control de la división, manifestándose por una proliferación excesiva y continua o en una reducción de la muerte celular programada o apoptosis***<sup>9</sup>.

Existen procesos celulares básicos y específicos de oxidación, detoxificación, estabilidad y reparación de DNA para el mantenimiento y adecuada funcionalidad inmunológica, regulados por genes ya bien determinados.

La proliferación celular está controlada por señales extracelulares y mecanismos de regulación intrínseca del ciclo celular. La **apoptosis** es un mecanismo fisiológico de eliminación celular al final de su vida activa, como parte del recambio celular necesario para contrarrestar la formación continua por división celular. Interviene en la formación de tejidos, morfogénesis y eliminación de células con daño genético. La alteración de este equilibrio en las neoplasias da lugar a un crecimiento incontrolado por una excesiva proliferación o por una reducida muerte celular<sup>10,11,12</sup>.

### **P53**

La proteína p53 consiste en una cadena de 393 aminoácidos, llamada “ *el guardián del genoma* “, promueve mecanismos de reparación del DNA mediante detección y detención de células con daño de DNA en la fase G1 del ciclo celular. Alternativamente, puede inducir también muerte celular mediante la activación de la apoptosis cuando existen daños genómicos irreparables. El gen que codifica para la proteína P53 se ubica en el cromosoma 17 y actúa como factor de transcripción uniéndose a promotores de genes implicados en la reparación de ADN.

La proteína p53 está dividida en tercios; rodeando el dominio amino terminal contiene el dominio de activación, el núcleo central que contiene el dominio de unión-DNA de secuencia específica y el dominio multifuncional carboxi terminal que es un dominio de interacción DNA no específico. La porción amino terminal interactúa con muchos factores de transcripción.

Aunque la proteína actúa como un activador transcripcional de genes que contienen sitios de unión a p53, es también capaz de inhibir fuertemente la transcripción de muchos genes carentes de estos sitios de unión a p53. La expresión de altos niveles del tipo salvaje (pero no mutante) de p53 tiene dos resultados: la detención del ciclo celular ó la apoptosis, protegiendo al genoma de la acumulación de un exceso de mutaciones.

*Partiendo de tal concepto, las células carentes de p53 muestran mayor inestabilidad genética y así, mayor tendencia al desarrollo de tumores.*

## **CITOGENÉTICA DEL CANCER**

---

*Las vías genéticas del p53/MDM2/P14arf y CDK4/RB1/P16ink4 involucradas en el control del ciclo celular y división celular, están desreguladas en la mayoría de los gliomas, así como los genes que promueven la división celular*<sup>13</sup>.

Uno de los objetivos que se plantea la biología molecular en tumores de estirpe glial es intentar encontrar marcadores o alteraciones genéticas que permitan un mejor abordaje y clasificación de los glioblastomas y con ello una mejor predicción del curso clínico y tratamiento. Las nuevas clasificaciones de los gliomas de acuerdo a los nuevos hallazgos de las vías moleculares deben mejorar aquello que concierne a la aplicación clínica y el pronóstico.

**La biología de los tumores se asocia con el balance de la expresión de proteínas que controlan de manera positiva o negativa el ciclo celular, la proliferación, neoformación vascular y el reconocimiento del sistema inmune.** Estos fenómenos son resultado de cambios en el nivel de expresión de un gen normal o de la pérdida de su expresión. La señal para que la célula normal prolifere comúnmente se inicia en la superficie celular, donde los factores de crecimiento liberados por la matriz extracelular o por el propio tumor interactúan con receptores específicos de membrana, desencadenando mecanismos de señalización intracelular que afectan la expresión génica para promover la división celular. Pueden existir alteraciones y mutaciones en cada una de estas vías que de manera independiente o en conjunto dan lugar a una pérdida de la regulación del ciclo celular, la angiogénesis, proliferación y favorecimiento de la invasión<sup>4</sup>. También ocurre alteración genética por arresto en la transcripción de un gen que condiciona su inactivación. Muchos genes supresores de tumores y genes reparadores de AND pierden la expresión mediante diversos mecanismos y se ha demostrado la presencia de éste tipo de alteraciones en tumores de estirpe glial.

Los genes supresores de tumores mantienen la homeostasis tisular controlando la proliferación, diferenciación celular y muerte celular programada. El gen supresor de tumor p53 ha llegado a ser el tema de vanguardia en la investigación del cáncer pues se encuentra frecuentemente mutado. El espectro de mutaciones brinda pistas para la etiología y patogénesis molecular del cáncer<sup>11,13,14</sup>.

Del total de casos anuales de cáncer a nivel mundial, se estima que aproximadamente el 36% - 50% contienen una mutación en el gen p53, lo que le confiere suma importancia en la patogénesis, diagnóstico y tratamiento en el cáncer humano.

Desde 1979 se encuentran ya reportes en los que se iniciaba el estudio de la asociación p53/cáncer. El gen p53 clonado de células neoplásicas de roedores y humanos mostró en ese entonces tener una actividad oncogénica débil. En 1989, el p53 fue encontrado mutado frecuentemente en humanos con cáncer por lo que la búsqueda de la función del mismo se intensificó a partir de entonces, pero a finales de los 80's, investigadores descubrieron que habían estado estudiando mutaciones de p53 en lugar de estudiar el gen salvaje de p53. Observaron que muchas mutaciones de p53 se comportaban como oncogenes dominantes, pero el gen supresor de tumor silvestre ó salvaje suprimió tanto la transformación neoplásica de fibroblastos de roedores in vivo, como el crecimiento de células neoplásicas de roedores y humanas in vivo e in vitro. El p53 es evidentemente un componente de las vías bioquímicas centrales en la carcinogenesis humana.

Estudios posteriores indicaron que la proteína p53 estaba involucrada en la transcripción genética, síntesis y reparación del DNA, en la plasticidad genómica y en la muerte celular programada<sup>12,15-18</sup>. Estos procesos bioquímicos complejos son llevados a cabo por maquinarias proteicas complejas, por lo que no sorprende que la proteína p53 forme complejos con otras proteínas celulares, y que proteínas oncovirales de ciertos virus DNA alteren la función de éstas maquinarias proteicas mediante su unión con p53 perturbando su interacción con otros componentes celulares proteicos.

**El potencial de una mutación de causar pérdida de la función supresora de tumor y de ganar actividad oncogénica le confiere al gen una capacidad dual de actuar como supresor o como oncogen ; aquellos tumores portadores de mutaciones de p53 tienden a ser más agresivos.** Las mutaciones somáticas de p53 pueden ser un evento temprano o tardío en la patogénesis de muchos tipos de cáncer.

Los glioblastomas, que pueden desarrollarse de novo (glioblastoma primario) o provenir de recidivas de astrocitomas que progresan a mayores grados de malignidad (glioblastoma secundario), están asociados con pérdida en la heterocigocidad del cromosoma 10, en el cuál se han identificado muchos genes supresores de tumores, afecta pacientes relativamente más jóvenes y muestra una supervivencia más larga y existe pérdida de función de p53. El que surge de novo (tipo 2) ocurre sin una lesión precedente, encontrándose intacto el gen de p53 pero con una amplificación del gen

EGFR. Se encuentra en pacientes más grandes y con una corta sobrevida pues parecen ser resistentes a la radioterapia y muestran un peor pronóstico.

En pacientes adultos con glioblastoma, se mostró una sobrevida de 14.2+- 1.7 meses cuando el p53 era del tipo salvaje y 29.7+-3.3 meses cuando se encontraba mutado<sup>19</sup>. La sobrevida después de la recidiva tumoral fue independiente del estado de p53, lo que sugirió que la sobrevida se relacionó con el tratamiento más que con la agresividad intrínseca del tumor.

## **P53 EN CANCER**

---

El gen de p53 en condiciones normales se encuentra secuestrado por su represor MDM2 que mantiene a la proteína P53 como proteína no funcional. Cuando la célula entra en división (fase G1-S), MDM2 libera a p53. Este factor de transcripción promoverá la transcripción de otros genes implicados en la apoptosis y reparación del DNA<sup>14,20,21</sup>. Tales funciones son alcanzadas por la activación transcripcional del inhibidor CDK p21/CDKN1 y por un grupo de genes reparadores.

La mutación de p53, sobre todo, la de tipo constitucional, es frecuentemente encontrada en los tumores de SNC<sup>4,9,22</sup>. De los cánceres en los que se ha visto la presencia de mutaciones de p53 desfilan el Ca gástrico, pulmonar, mama, colorrectal, cérvix, linfoma, próstata, vejiga, leucemias, ovario, páncreas, así como en Ca laríngeo y faríngeo<sup>28</sup>.

Los astrocitomas difusos genéticamente se caracterizan por la presencia de mutaciones de TP53 en aproximadamente 2/3 partes de los casos. Se ha reportado mediante PCR y secuenciación de ADN anormalidades en la vía de p53 que son comunes en los astrocitomas de alto grado supratentoriales<sup>7, 23</sup>. *Una de las características moleculares asociadas con un peor pronóstico de los gliomas es la sobreexpresión y/o mutación del gen supresor de tumores p53<sup>8</sup>. Se sabe que la pérdida de la función de p53 es un evento temprano en la tumorigénesis del astrocitoma y condiciona una falla en la inhibición del crecimiento celular, inestabilidad genética y transformación maligna de las células.* En el presente trabajo no realizamos determinación de mutación de p53, simplemente buscamos la sobreexpresión de la proteína.

Los astrocitomas anaplásicos han mostrado la más alta prevalencia de mutaciones de p53 (67%) lo cuál, desgraciadamente no se podrá estudiar en el presente protocolo pues

los anticuerpos con que contamos solo nos ayudan a determinar si esta presente o ausente p53 (expresa o no la molécula), así como la intensidad de la expresión. Para poder conocer su funcionalidad se requerirían estudios de epigenética con los que no contamos pero que actualmente estudios en el mundo están tratando de determinar <sup>9</sup>

En un estudio Ständer encontró que el estado de TP53 fue predictivo en todos los casos de tumor o enfermedad recurrente en cuanto al tiempo de transformación maligna. Se encontró que el estado **mutado** de éste fue un predictor independiente desfavorable de supervivencia, período libre de progresión y tiempo de transformación maligna <sup>24</sup>. Okamoto también asoció la mutación de TP53 con una supervivencia más corta en pacientes con astrocitoma de bajo grado <sup>25</sup>. Se observó una sobreexpresión/acumulación de p53 en el 46.8% de todos los tumores y en un 91.8% hubo mutaciones positivas de TP53 <sup>24</sup>. Un estudio hecho en el St. Jude Children's Research Hospital reporta que la sobreexpresión de la proteína p53 es utilizada como un marcador sustituto de alteración de p53 con respecto a su estado funcional y no siempre está asociado con una mutación de TP53 <sup>7</sup>. La sobreexpresión de ésta se encontró en un tercio de los pacientes con gliomas de alto grado. Se encontró sobreexpresión de la proteína MDM2 que regula mediante inhibición o al suprimir la actividad transcripcional de p53, en dos tercios de sus pacientes con diagnóstico comentado. Reportan que entre los niños menores a 4 años de edad con astrocitoma supratentorial de alto grado, mutaciones de TP53 y sobreexpresión de la proteína son menos prevalentes.

En un análisis alterno, multivariado que incluyó el estudio de la expresión/sobreacumulación (sobreexpresión) de TP53 en lugar de estudiar su estado de mutación, la expresión no exhibió significancia pronóstica. **La detección de una sobreexpresión de productos de p53 mediante IHQ se ha asociado con la identificación de mutaciones en el gen TP53 en un gran número de estudios clínicos** <sup>26,27</sup>

Erill y cols. investigaron el gen p53 y su producto en 76 pacientes afectados con carcinoma vesical mediante inmunohistoquímica (mAb DO-7) empleando el sistema estreptavidina-biotina inmunoperoxidasa. Los controles positivos fueron casos conocidos como albergadores de mutaciones de TP53 que mostraban una reacción de tinción nuclear positiva. Consideraron como reacción positiva a aquella reacción fenotípica nuclear con un conteo de 20% de células tumorales por campo que fueran inmunoreactivas. El anticuerpo anti-p53 detecta un epítipo presente en la N-terminal de p53, mapeando aminoácidos que identifican la forma silvestre del p53 y el mutante. Sin

embargo, dada la corta vida media y los bajos niveles de expresión del tipo salvaje de p53, solo las proteínas mutantes de p53 que se acumulan en el núcleo de las células tumorales son visualizadas mediante IHQ. Encontraron 23 pacientes de 76 positivos, el resto con fenotipo negativo pero con deleciones identificadas de p53 mediante PCR. Reportando así una asociación significativa entre el fenotipo y el genotipo. La asociación más significativa se encontró entre el estado de p53 y la etapa y grado tumoral, con alteraciones más comúnmente en tumores avanzados y de alto grado <sup>19</sup>

Datos obtenidos de este estudio confirman que la acumulación de p53 nuclear detectada mediante IHQ con el anticuerpo DO-7 es indicativo de la presencia de mutación de p53 y que significa la sobreexpresión de éste.

La arbitrariedad en la elección de los valores límites para reportar los resultados de la IHQ, junto con el anticuerpo usado y el tipo de tejido analizado puede afectar la fiabilidad de la evaluación del estado de p53. Aunque el valor límite de 10% de células tumorales que demuestran inmunoreactividad nuclear para p53 ha sido utilizado por varios investigadores, el valor límite de 40% ha sido también utilizado durante la evaluación del valor pronóstico del fenotipo de p53 en el Ca de vejiga. Estudios metodológicos que comparan la expresión de p53 mediante IHQ y las mutaciones de p53 por ensayos génicos han revelado una exactitud superior con valores límites cuando se muestra una inmunoreactividad nuclear para p53 de 20% de células tumorales <sup>19,28</sup>.

**Algunos autores han sugerido una asociación entre un pobre pronóstico y la determinación de altos valores de p53 (sobreexpresión) mediante IHQ en ausencia de mutaciones detectables de p53.** Alteraciones en otros genes que participan en la vía del p53 produciendo acumulación, pueden contribuir para este fenotipo positivo no relacionado con mutaciones dado que, el DO-7 reconoce ambas formas del p53; el salvaje y el mutado<sup>28</sup>. **Múltiples estudios de tumores primarios asocian la alteración en la expresión de p53 y la detección de mutaciones de TP53 con un curso clínico agresivo y pobre respuesta a terapias específicas.**

Es bien conocida la corta vida media de la proteína P53, pero la sustitución de aminoácidos resultantes de las mutaciones conducen a la estabilización de sus productos y prolongación de su vida. Esta acumulación permite la *inmunolocalización microanatómica* en cortes de tejidos de tumores primarios. Pese a la aceptación general de ésta técnica como reflejo que muestre la mutación, la ausencia de la reactividad nuclear no descarta la presencia de alteraciones en el gen TP53 pues, mutaciones sin sentido pueden producir transcripciones inestables o proteínas truncadas que carezcan

de localización nuclear, dando tinciones negativas y resultados falsos negativos; con lo que confirman lo que otros autores dicen de la *necesidad de realizar en paralelo a la IHQ, estudios moleculares*. Estos eventos ocurren aproximadamente en el 20% de las mutaciones de TP53 detectadas en ciertos tumores en particular <sup>28</sup>.

*La pérdida de función del gen supresor de tumores p53 ocurre en la tumorigenesis temprana de los astrocitomas en aproximadamente el 30-40% de los casos* <sup>10</sup>. Esto le confiere a las células capacidad de crecimiento, permitiéndoles la expansión clonal por la pérdida del punto de control en G1 del ciclo celular y de la apoptosis. La inestabilidad genética que resulta del daño a la capacidad de p53 de mediar la reparación DNA alterado promueve la adquisición de nuevas anormalidades genéticas, llevando a la progresión maligna de un astrocitoma de bajo grado a astrocitoma anaplásico. Esto se refleja por una alta tasa de mutación de p53 en los astrocitomas anaplásicos (60-70%). El control del ciclo celular adquiere compromiso en el astrocitoma por la alteración en el control genético de la transición de G1/S tanto por la pérdida de los genes p16/CDKN2 o RB como por la amplificación de los genes de ciclina.

Es un fenómeno conocido el hecho de que los astrocitomas anaplásicos muestran una tasa menor de mutación que los glioblastomas malignos, si consideramos las vías duales de la progresión maligna a glioblastoma: una vía es la progresión de los astrocitomas de bajo grado a glioblastoma mediante la expansión de células mutadas de p53 y la otra vía en la que los glioblastomas ocurren de novo sin mutaciones de p53. Los ependimomas y tumores neuroectodérmicos primitivos/meduloblastomas solo raramente presentan mutación de p53, aunque a menudo contienen un componente astrocítico.

## **PERDIDA DE APOPTOSIS**

---

El p53 transactiva el gen que codifica para el factor pro-apoptótico Bax que desencadena la apoptosis y detiene la transcripción del gen Bcl-2, cuyo producto suprime la apoptosis. **La activación de p53 no siempre induce el proceso de apoptosis**, pues hay una selección entre la detención de G1 y la apoptosis, dependiendo del tipo celular y su condición. La inducción de Bax causa reacciones mitocondriales que llevan a la liberación de caspasas y cambios en la permeabilidad de la membrana iniciando la apoptosis. Otros genes transactivados por p53 incluyen el MDM2 (murine double-minute 2) <sup>30</sup>, EGFR (epidermal growth factor receptor), TGF-  $\alpha$  (transforming

growth factor-  $\alpha$ ), DDR (discoidin domain receptor), IGF-BP3 (insulin-like growth factor binding protein 3), ciclina G y A28-RGS14 (regulador de proteína G). También funciona como un gen transcripcional represor de genes con las cajas TATA y CAAT en su secuencia promotora. Los genes reprimidos incluyen al de ciclina A, IGFII, al del receptor de IGFI, VEGF (vascular endotelial growth factor), bFGF (basic fibroblast growth factor), interleucina 6, MDR1 (multiple drg resistance 1), MGMT (methylguanine methyl transferase), iNOS (inducible nitric oxide synthase), c-fos, c-jun, hsc70 (heat shock protein 70). Así la pérdida de función de p53 puede causar liberación de la represión de éstos genes, lo que conduce a un aumento en la expresión de factores de crecimiento autocrinos y sus receptores, de citocinas angiogénicas parácrinas, resistencia a drogas y oncogenes promotores de crecimiento.

Existe una hipótesis bien aceptada que refiere que la inactivación de p53 es asociada con disminución en la radiosensibilidad debido a la abolición de apoptosis dependiente de p53. (Clarke et al., 1993; Lowe et al., 1993). En las células de glioblastoma con mutación de p53, la radiación no bloquea la progresión del ciclo celular, permitiendo así paso de G2-M .

El gen MDM2, proteína que se opone a la función de p53 directamente mediante la inhibición de su actividad transcripcional y promoviendo su degradación, se encuentra amplificado o sobreexpresado en el 10% de los astrocitomas de alto grado, pero en ninguno de los de bajo grado.

La pérdida de función de p53 resulta en una falta de apoptosis dependiente de p53, confiriendo resistencia a los agentes que dañan el DNA. Por otro lado, la detención de la función del p53 silvestre (salvaje) no garantiza una mejor sensibilidad al daño o a los agentes que dañan el DNA en ciertas células tumorales, particularmente en células de glioblastoma, en el que participan otros inductores de apoptosis como p21.<sup>10,14,29</sup>

## CLASIFICACION

---

Los astrocitomas, tumores neuroepiteliales (astrocíticos), juegan una significativa heterogeneidad histopatológica que los separa en grupos de **bajo grado y alto grado** en función de su comportamiento clínico, histopatológico y localización . La gradación otorgada (Grado I a IV) de acuerdo a la OMS cataloga como **grado I** a aquellos tumores con bajo potencial infiltrativo y proliferativo, crecimiento expansivo, con posibilidad de curación tras la resección quirúrgica sola; **grado II** cuando son de naturaleza

infiltrativa, conservan el bajo potencial proliferativo pero con tendencia a recurrir y riesgo de progresión a un mayor grado, generalmente alta sobrevida a más de 5 años; **grado III** ya evidencia de malignidad, mitosis y anaplasia y alta capacidad infiltrativa, generalmente ameritando radioterapia o quimioterapia adyuvante, su sobrevida generalmente de 2 a 3 años tras el diagnóstico ; **grado IV** lesión francamente maligna, mitóticamente activa, tendencia a la necrosis, cursan con rápida evolución pre y postquirúrgica y amplia infiltración a tejido circundante y tendencia a diseminación craneoespinal con muerte del mayor porcentaje de estos paciente durante el primer año de evolución tras su diagnóstico, respuesta inadecuada al manejo quimioterapéutico requiriendo terapias muy intensas<sup>31</sup>. Los tumores catalogados como de bajo grado corresponden a los tumores de GI y GII y los de alto grado son los equivalentes a los de grado III y IV.

## CUADRO CLINICO

---

---

La sintomatología de los astrocitomas está relacionada con la localización, tamaño y la velocidad de crecimiento <sup>32</sup>.

Aquellos de crecimiento lento producen efecto de masa sobre estructuras vecinas y puede llegar a ser demasiado grandes con el tiempo hasta antes de llegar a ser sintomático. En cambio los de crecimiento rápido producen sintomatología temprana y la presentan incluso cuando son relativamente pequeños.

Aunque el cuadro de presentación depende de la localización tumoral, la presentación más común de las neoplasias intracraneales es la que deriva de un aumento en la presión intracraneana (PIC) y déficit neurológicos focales. Si los síntomas de incremento en la PIC preceden al inicio de signos focales de disfunción, lo más probable es que el tumor se encuentra en ventrículos o en estructuras profundas de línea media. Si la sintomatología focal como crisis convulsivas, ataxia, defectos del campo visual, alteración de nervios craneales o disfunción de tractos corticoespinales predominan, es muy probable que la lesión se origine en estructuras parenquimatosas como hemisferios cerebrales, tallo cerebral o cerebelo.

La gama de sintomatología en los tumores intracraneales incluye cefalea, irritabilidad en niños pequeños, vómito, alteración de la marcha y equilibrio, diplopía, somnolencia, cambios de conducta y personalidad, disminución en el aprovechamiento

escolar, crisis convulsivas. Los signos que pueden encontrarse son papiledema, alteración de nervios craneales, signos de focalización de acuerdo al sitio de lesión.

Es meritoria la obtención de especimen tisular mediante biopsia o resección total de la tumoración y realizar estudio histopatológico para el diagnóstico definitivo, realizando microscopía de luz, inmunohistoquímica y actualmente estudios biomeoleculares a fin de definir patrones tanto genéticos como epigenéticos que pudieran interferir en el pronóstico de éstos pacientes y por ende, permitir ofrecer una terapéutica más dirigida.

## **TRATAMIENTO**

---

El tratamiento es multidisciplinario y depende del grado de malignidad y reporte histológico y biomolecular. El tratamiento primario estándar comprende el abordaje quirúrgico con una resección lo más extensa posible, seguida de radioterapia en aquellos niños mayores de 5 años de edad, asociado con quimioterapia de acuerdo al grado de malignidad. No se ha logrado tener el impacto esperado en los pacientes con astrocitoma, sobre todo los de alto grado de malignidad, pues han mostrado comportamientos atípicos incluso con las terapias específicas más intensivas.<sup>33</sup>

Una mayor resección quirúrgica conlleva a una mejor expectativa de vida, pero existe dificultad para cumplir el criterio oncológico quirúrgico de reseca el tumor con márgenes libres de células neoplásicas ya que el tejido adyacente al que se origina el tumor es tejido funcional con alto riesgo de dejar secuelas funcionales permanentes. La quimioterapia se ha venido usando cada vez más en los astrocitomas grado II, pues por lo general se ha reservado su uso para los pacientes sin respuesta a la cirugía y radioterapia. La radioterapia precoz tras cirugía en gliomas de bajo grado aumenta el periodo libre de progresión sin afectar la supervivencia. A los 5 años de la RT precoz el 55% de los pacientes no presentan progresión frente al 35% de los pacientes tratados de forma expectante.

La evaluación y el diseño de diferentes modalidades terapéuticas que apuntan a la prevención de la progresión maligna de los astrocitomas y glioblastomas deben basarse en la estadificación de los pacientes de acuerdo a su diagnóstico genético.

Para el glioblastoma multiforme, incluso con tratamiento combinado agresivo la mediana de supervivencia es solo de 12 a 15 meses, con una sobrevida media a los 5 años inferior al 5%.

## PRONOSTICO

---

El grado de malignidad se ha correlacionado con factores como la localización, histología, edad al momento del diagnóstico, capacidad infiltrativa, porcentaje de resección tumoral lograda, respuesta al tratamiento, alteraciones genéticas presentes, índice de mitosis y proliferación. Así, los de bajo grado están generalmente localizados en la fosa posterior y los de alto grado situados a nivel supratentorial. La sobrevida reportada de acuerdo a localización ha sido de 82% y 66% a 1 y 5 años respectivamente en los supratentoriales, de 100% y 80% a 1 y 5 años los de ubicación infratentorial y los de tallo cerebral con sobrevida a un año de 76% y a cinco años de 34%. Las defunciones que se reportan son en su mayor número astrocitomas de alto grado y de localización en tallo cerebral; en 41% han ocurrido durante los primeros doce meses tras el diagnóstico.<sup>1</sup> En cuanto a los astrocitomas de alto grado, el grado de resección quirúrgica se convierte en el factor clínico pronóstico más importante, independientemente de otros factores; con mejor pronóstico cuando se someten a una resección completa o de más del 90% del tumor<sup>7,8</sup>.

Es necesario conocer la cinética celular, factores biomoleculares intimamente ligados a ésta, tanto para proliferación como para muerte celular, por lo cuál, el entendimiento del rol de moléculas como p53 es de vital importancia para saber si influyen en el comportamiento biológico de estas células tumorales y el pronóstico de éstos pacientes, que a la vez nos permitirán dar esquemas de QT más o menos agresivos<sup>33,34</sup>

## **JUSTIFICACIÓN**

---

En el grupo de pacientes con astrocitoma se han identificado factores pronósticos que hacen que aquellos de alto grado ameriten manejos más agresivos. Estos factores han sido considerados para ajustar tratamientos; sin embargo, la sobrevida que se ha logrado en el grupo de pacientes de alto grado es de 56% a 24 meses, por lo cuál se requiere profundizar en el estudio del comportamiento biológico molecular de esos pacientes para brindar terapias más dirigidas y mejorar la sobrevida global.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA / PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

Los astrocitomas son los tumores cerebrales más frecuentes en la edad pediátrica y su comportamiento biológico y molecular ha sido poco estudiado en esta población. Algunos marcadores se asocian con la sobrevida y respuesta al tratamiento de éste tipo de tumores.

¿Existe correlación entre la sobreexpresión de p53, la histología y la sobrevida de los pacientes con astrocitoma?

## **HIPÓTESIS (GENERAL / ESPECÍFICAS)**

---

---

- Aquellos pacientes que sobreexpresan p53 tendrán una sobrevida 30% menor que aquellos que no lo sobreexpresan.
- Aquellos pacientes que sobreexpresen p53 se asocian al menos en un 50% con histología de alto grado.

## **OBJETIVOS (GENERAL/ESPECÍFICOS)**

---

---

### **- GENERAL**

---

- Determinar si existe asociación entre la sobreexpresión de p53 con la sobrevida de pacientes con astrocitoma de bajo y alto grado

### **- ESPECIFICO:**

---

1. Determinar si existe asociación entre la sobreexpresión de p53 con la sobrevida global .
2. Determinar si existe asociación entre la sobreexpresión de p53 con la histología tumoral (alto o bajo grado).
3. Determinar si existe asociación entre la sobreexpresión de p53 con la localización del tumor.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

---

### **- LUGAR DONDE SE DESARROLLÓ EL ESTUDIO**

Hospital de Pediatría CMN SXXI, Servicio Oncología Pediátrica  
Laboratorio de Investigación de Tumores del Sistema Nervioso Central

### **- DISEÑO / TIPO DE ESTUDIO**

- Ambilectivo, longitudinal, observacional, comparativo
- A través de una cohorte que se dividió y comparó en función de la expresión de p53

### **- UNIVERSO/POBLACIÓN DE ESTUDIO**

- Pacientes con astrocitoma de alto y bajo grado diagnosticados en el Hospital de Pediatría entre el 01 enero 1995 y 31 diciembre de 2009.

### **- CRITERIOS SELECCIÓN**

#### **INCLUSION**

- Pacientes con diagnóstico de certeza por Patología de astrocitoma realizado durante un período comprendido entre 01 enero 1995 y 31 diciembre de 2009.
- Pacientes de cualquier sexo menores de 18 años de edad
- Pacientes que no hayan recibido ningún tratamiento al momento de tomarse la muestra de tejido tumoral.
- Pacientes con expediente completo de tal forma que se puedan obtener datos de seguimiento de curso clínico.
- Pacientes con los que se cuente con bloque de parafina o muestra de tejido tumoral en fresco
- Pacientes que hayan completado tratamiento en ésta unidad o hayan tenido seguimiento al menos durante 6 meses.

## **ELIMINACIÓN**

- Pacientes pediátricos con diagnóstico histopatológico de astrocitoma que no cuenten con bloque de parafina o tejido fresco para realización de inmunohistoquímica
- Muestra tumoral insuficiente para realización de inmunohistoquímica
- Muestra tumoral inapropiada para realización de inmunohistoquímica

## **- TAMAÑO DE MUESTRA**

- Todos aquellos pacientes diagnosticados con tumor de SNC de enero 1995 a diciembre 2009 específicamente astrocitoma

## **- TIPO DE MUESTREO**

- No probabilístico

## VARIABLES

| VARIABLE              | TIPO DE VARIABLE             | DEFINICION CONCEPTUAL   | DEFINICIÓN OPERATIVA  | ESCALA DE MEDICIÓN        | CATEGORIA  |
|-----------------------|------------------------------|---|---|---------------------------|--|
| EDAD                  | (Universal)<br>Independiente | Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo ó tiempo de vida en años              | Edad cumplida en años al momento del diagnóstico  | Cuantitativa:<br>Continua | Meses  |
| SEXO                  | Universal                    | Conjunto de caracteres orgánicos que diferencian a una especie en macho y hembra/<br>hombre-mujer | Aspecto fenotípico que distingue al niño en hombre y mujer  | Cualitativa:<br>Nominal   | Masculino<br><br>Femenino  |
| HISTOLOGÍA            | Independiente                | Categorización del tumor según características de acuerdo a la clasificación de la OMS            | Determinación de las características de malignización con clasificación de la OMS mediante visualización microscópica directa de las laminillas obtenidas de las piezas quirúrgicas | Cualitativa<br>Nominal    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- Grado I</li> <li>- Grado II</li> <li>- Grado III</li> <li>- Grado IV</li> </ul><br>GI Y GII : Bajo Grado<br><br>GIII y GIV : Alto Grado |
| LOCALIZACIÓN          | Independiente                | Sitio anatómico de origen del astrocitoma   | Determinación de la situación anatómica que ocupa el tumor mediante TC o IRM  | Cualitativa:<br>Nominal   | 1. Supratentorial <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hemisferio Cerebral</li> <li>- Tálamo</li> <li>- Quiasma</li> </ul> 2. Infratentorial<br><br>3. Tallo Cerebral        |
| SOBREEXPRESION DE P53 | Independiente                | Distribución de las células p53 positivas dentro de la muestra                                    | Determinación mediante tinción por inmunohisto-   | Cuantitativa<br>discreta  | (Porcentaje de células p53 positivas) <ul style="list-style-type: none"> <li>- Más del 50% de</li> </ul>   |

|                  |             |   |  |                       |  |
|------------------|-------------|---|--|-----------------------|--|
|                  |             | tomada para laminilla dirigida por medio de Ac monoclonal contra el epítoto de p53  | química de las muestras en laminilla.  |                       | células/campo con tinción nuclear positiva |
| SOBREVIDA GLOBAL | Dependiente | tiempo que transcurre desde el diagnóstico de astrocitoma hasta que fallece o se demuestra su curación determinada por la última consulta de vigilancia | Tiempo que transcurre desde el diagnóstico hasta la muerte ó tiempo a la última cita | Cuantitativa Continua | Meses                                      |

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

---

\* **DESCRIPTIVO:** Para las variables cuantitativas continuas se utilizaron medidas de tendencia central y valor mínimo y máximo como medidas de dispersión. Para las variables cuantitativas discretas la mediana fue la medida de tendencia central y valor mínimo y máximo como medidas de dispersión

\* **INFERENCIAL:** Para las variables cualitativas se utilizaron la moda y frecuencias simples. Se realizaron curvas de supervivencia global a 1,5 y 10 años con el método para determinar porcentaje de supervivencia por grupos, en aquellos que sobreexpresaron y los que no sobreexpresaron p53.

### - CAPTURA DE DATOS Y PACIENTES

Se capturó a aquellos pacientes con diagnóstico de Astrocitoma a través de los reportes histopatológicos emitidos durante el período de enero 1995 a diciembre 2009, de donde se partió para la búsqueda de expedientes clínicos de los mismos en el Hospital de Pediatría CMN SXXI.

La información se obtuvo a partir de los datos plasmados en los expedientes clínicos con búsqueda dirigida de datos como la edad al momento del diagnóstico, volumen tumoral basal (pre y postquirúrgico), así como los volúmenes tumorales tras 4 cursos de quimioterapia y tras la radioterapia, la localización del tumor, reporte de histopatología, fechas correspondientes al diagnóstico, a la recidiva y de la última consulta registrada.

Se realizó búsqueda de los bloques de parafina, así como los tejidos conservados en congelación del tejido tumoral del banco de tumores del laboratorio de investigación de tumores cerebrales y se realizó el estudio de inmunohistoquímica para determinación de la expresión de p53 y su cuantificación.

## **METODOLOGÍA DE DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE p53**

Luego de la captura de todos aquellos pacientes con diagnóstico de astrocitoma por Patología, se buscaron expedientes y se recolectó información sobre edad al diagnóstico, sexo, localización de tumor, fecha de diagnóstico, quimioterapia utilizada, dosis de RT en aquellos casos en que se utilizó, fecha de recidiva en caso de presentarse y estado actual del paciente, obteniendo con ello el período libre de enfermedad y sobrevida global.

Se realizó mediante técnica de inmunohistoquímica la determinación de expresión de p53 en la células de tejido tumoral conservado en los bloques de parafina y tejido fresco en congelación, los primeros fueron del servicio de Patología de éste hospital, en tanto que los segundos, se encontraban en mantenimiento en el laboratorio de investigación de tumores del SNC.

La técnica de inmunohistoquímica se realizó con registro de los siguientes datos: número de biopsia o pieza quirúrgica, nombre del anticuerpo a detectar y nombre del médico solicitante. Se buscó un bloque con un control positivo (testigo) al anticuerpo para p53, en nuestro caso se utilizó como testigo cáncer de mama. Se realizaron los cortes histológicos de los bloques de parafina, de un grosor de 4 micras, éstos montados en laminillas tratadas con poli-L-lisina y en una sola laminilla se colocaron el caso y el testigo. Previa desparafinación de las laminillas a 60°C durante 30 minutos, colocación posterior en xilol y etanol, se realizó la hidratación de los bloques de parafina. Posteriormente se realizó la recuperación de epítopes, mediante el proceso de *desenmascaramiento de epítopes*, con solución de desenmascaramiento de citrato de sodio (Diva Decloaker 10X', Biocare Medical, DV 2004MX, Preparación a 1X'). Se procedió a realizar inmunotinción mediante el sistema de biotina-estreptavidina - peroxidasa, en la que se incubó el anticuerpo primario anti-p53 (de ratón antihumano, CLONA DO7), el anticuerpo secundario biotilado (DAKO BIOTINYLATED LINK UNIVERSAL, REF K0690) y se aplicó el complejo estreptavidina-peroxidasa con 4 moléculas de peroxidasa para amplificar la señal (DAKO ESTREPTAVIDIN-HRP, REF K0690), posteriormente se reveló con cromógeno 3,3 D-aminobendicina (DAB) (BIOCARE MEDICAL, DAB CHROMOGEN KIT, REF DB801L). Realizando una contratinción con hematoxilina de Gill por un lapso de 3 minutos y deshidratación nuevamente de las muestras, se realizó lectura al microscopio de luz. Se consideró como sobreexpresión cuando más del 50% de las células por campo de los los campos estudiados mostraron inmunorreactividad nuclear positiva.

La lectura de las laminillas se realizó por un solo observador, el cuál se encontró cegado al reporte histopatológico y evolución del paciente.

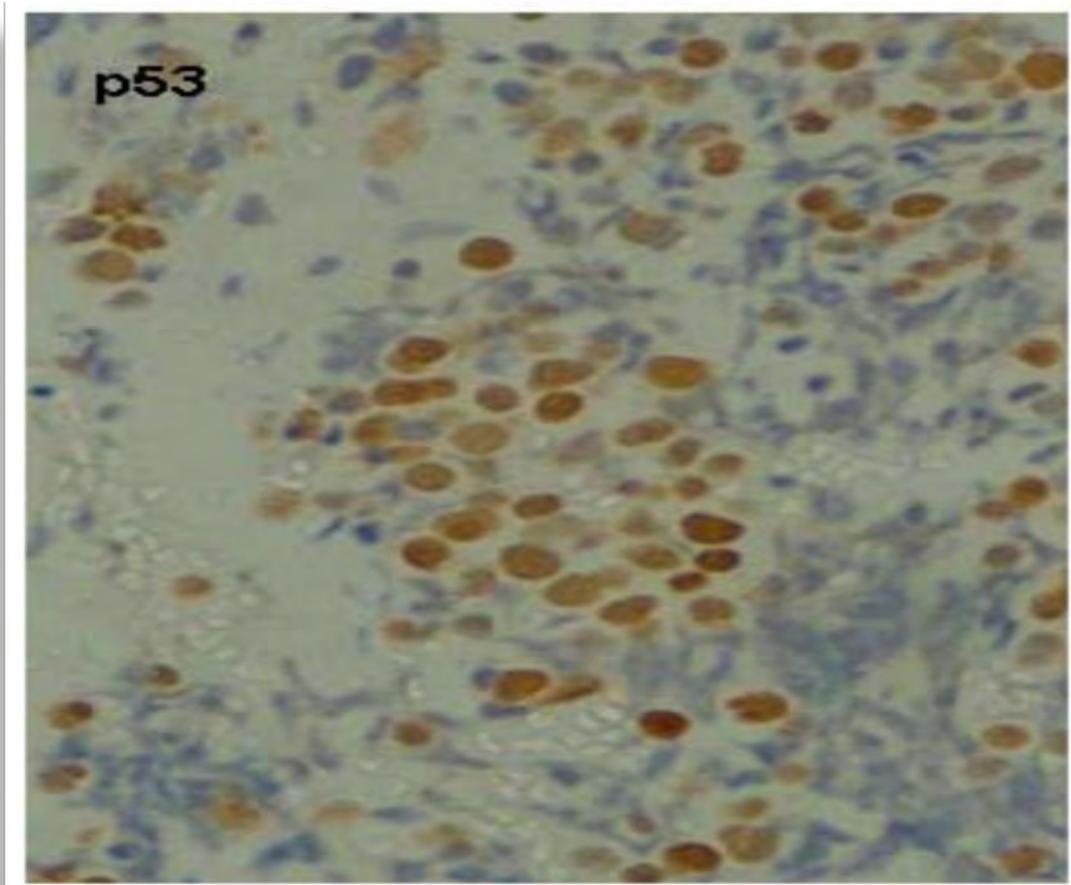


Fig. 1 TINCIÓN NUCLEAR POSITIVA (EXPRESIÓN P53) COLOR CAFÉ TABACO

## RECURSOS MATERIALES

---

|   |  |
|---|--|
| Bloques de parafina con tejido tumoral                            | Crioviales de 2 ml con tapa rosca externa  |
| Tejido tumoral en congelación                                     | Embudo de cuello corto de vidrio o plástico  |
| Expedientes clínicos del HP                                       | Frascos ámbar y transparentes de boca ancha esmerilada de diferentes volúmenes 100, 250 y 500 ml |
| Hojas blancas, computadora, impresora                             | Matraz volumétrico de diferentes volúmenes (50, 100, 250, 500 y 1000 ml)                         |
| Para inmunohistoquímica:  | Olla de presión para microondas  |
| Agitador octagonal magnético                                      |  |
| Canastilla de acero inoxidable con capacidad para 30 portaobjetos |  |
| Coverplates   |  |

papel filtro del #3  
Pinzas para cirujano  
Pipetas graduadas de diferentes volúmenes (1, 5 y 10 ml)  
Pisetas de 100 y 500 ml  
Portaobjetos de 25X75 mm con pantalla esmerilada tratados con poli-L-lisina

Probeta graduada de diferentes volúmenes (50, 100, 250 y 1000 ml)  
Puntas para micro pipetas  
Rack (bastidores)  
Tubos de ensayo de 12 X 75 mm  
Tubos para micro centrífuga de 0.6 y 1.7 ml  
Vasos de coplin de plástico y vidrio con capacidad para 9 portaobjetos

Vasos de precipitados de 50, 100, 500 y 600 ml  
Vasos de tinción de 500 ml  
Agua destilada  
Anticuerpo monoclonal primario anti-p53 de ratón antihumano, CLONA DO7  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 0.9%  
H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%  
Kit de cromógeno DAB  
Kit de cromógeno Nueva Fucsina  
PBST 1, 10 X  
Sistema de detección de proteínas para IHQ Biotina-Estreptavidina/Peroxidasa  
Solución de desenmascaramiento 1x', 10X'  
Solución de Hematoxilina de Gill  
TBST 1x', 10X'

---

## RESULTADOS

---

Se incluyeron un total de 35 pacientes; 18 fueron niñas (51.4%) y 17 niños, con una relación mujer : hombre de 1.05:1. La media de edad al momento del diagnóstico fue de 70.4 meses (16-192 meses). Solo 4 pacientes fueron menores de 3 años de edad. Con respecto a la localización, 12 (34.3%) fueron supratentoriales , 23 pacientes (65.7%) con localización infratentorial; de los cuáles, 13 (56.5%) fueron cerebelosos y 10 (43.5%) se albergaron en tallo cerebral.

De acuerdo al grado de malignidad, 23 pacientes (65.7%) cursaron con astrocitoma de bajo grado, 12 pacientes (34.3%) fueron de alto grado, de los cuáles, 9 (75%) fueron astrocitoma anaplásico y 3 (25%) fueron glioblastoma multiforme.

De los pacientes incluidos, 21 (60%) se encuentran aún vivos; con un 64% de los hombres vivos Vs 55% de las niñas (  $p=0.418$ ). La media de supervivencia de todo el grupo fue de 32 meses (2-169 meses). De acuerdo a la edad, solo el 25% de los pacientes menores a 36 meses están vivos, en comparación con el 64.5% de aquellos mayores de 3 años de edad (  $p=0.165$ ).

La mortalidad según la histología fue 6 pacientes con astrocitoma de bajo grado (26%). Cinco pacientes con astrocitoma anaplásico (55.5%) y 3 pacientes (100%) con glioblastoma multiforme ya murieron ( $p=0.026$ ).

Un 50% de los pacientes con localización supratentorial murieron, comparado con un 38.4% de aquellos con localización infratentorial y 30% de los de localización en tallo cerebral (  $p=0.628$ ).

Al realizar la inmunohistoquímica encontramos que 23 pacientes (65.7%) fueron negativos para la sobreexpresión de p53; de los cuáles, 16 (69.5%) están actualmente vivos Vs 41.6% de aquellos con sobreexpresión de p53 positiva ( $p=0.109$ )

Dos de los 3 pacientes (66.6%) con glioblastoma multiforme, sobreexpresaron p53, mientras que solo 3 de los 9 pacientes (33.3%) con astrocitoma anaplásico y 7 (30.4%) pacientes con astrocitoma de bajo grado fueron positivos para la sobreexpresión de p53. ( $p=0.460$ )

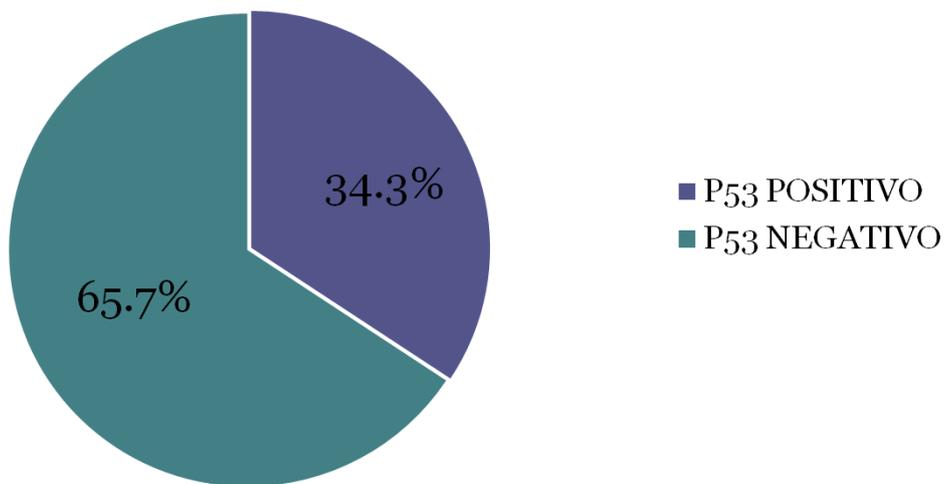
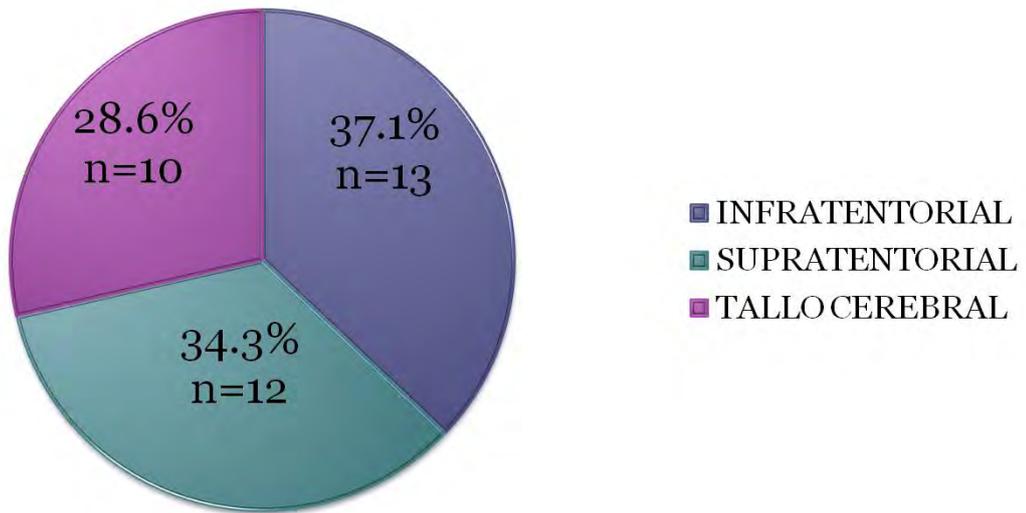
Tras un análisis de regresión múltiple, se encontró que solo una edad menor a 3 años ( $p=0.39$ ) y la histología de alto grado (astrocitoma anaplásico y glioblastoma multiforme) ( $p=0.006$ ) fueron predictores independientes de sobrevida.

La sobrevida de acuerdo al método de Kaplan Meier para los pacientes que no sobreexpresaron p53 fue de 69.5% a 120 meses contra 40% a 120 meses para aquellos con sobreexpresión de p53 (Log Rank test  $p=0.2189$ )

El riesgo (OR) de desarrollar glioblastoma multiforme cuando existe sobreexpresión de p53 es de 4.4 (0.356 – 54.36).

| PACIENTE | EDAD AL DX | SEXO | LOCALIZACION   | HISTOLOGIA              | EXPRESION P53 | ESTADO ACTUAL |
|----------|------------|------|----------------|-------------------------|---------------|---------------|
| 1        | 16         | M    | SUPRATENTORIAL | BAJO GRADO              | +             | MUERTO        |
| 2        | 36         | M    | SUPRATENTORIAL | GLIOBLASTOMA MULTIFORME | +             | MUERTO        |
| 3        | 56         | M    | SUPRATENTORIAL | GLIOBLASTOMA MULTIFORME | +             | MUERTO        |
| 4        | 61         | H    | INFRATENTORIAL | ANAPLASICO              | +             | MUERTO        |
| 5        | 91         | H    | TALLO CEREBRAL | BAJO GRADO              | +             | VIVO          |
| 6        | 82         | H    | SUPRATENTORIAL | ANAPLASICO              | +             | MUERTO        |
| 7        | 150        | M    | SUPRATENTORIAL | BAJO GRADO              | +             | VIVO          |
| 8        | 31         | H    | INFRATENTORIAL | BAJO GRADO              | +             | MUERTO        |
| 9        | 54         | M    | INFRATENTORIAL | BAJO GRADO              | +             | VIVO          |
| 10       | 31         | H    | INFRATENTORIAL | BAJO GRADO              | +             | VIVO          |
| 11       | 45         | M    | TALLO CEREBRAL | ANAPLASICO              | +             | MUERTO        |
| 12       | 92         | F    | TALLO CEREBRAL | BAJO GRADO              | +             | VIVO          |
| 13       | 60         | H    | INFRATENTORIAL | BAJO GRADO              | -             | MUERTO        |
| 14       | 48         | H    | SUPRATENTORIAL | BAJO GRADO              | -             | VIVO          |
| 15       | 31         | M    | TALLO CEREBRAL | BAJO GRADO              | -             | VIVO          |
| 16       | 40         | M    | SUPRATENTORIAL | GLIOBLASTOMA MULTIFORME | -             | MUERTO        |
| 17       | 192        | H    | TALLO CEREBRAL | ANAPLASICO              | -             | VIVO          |
| 18       | 61         | H    | TALLO CEREBRAL | ANAPLASICO              | -             | VIVO          |
| 19       | 87         | M    | TALLO CEREBRAL | BAJO GRADO              | -             | VIVO          |
| 20       | 46         | F    | TALLO CEREBRAL | BAJO GRADO              | -             | VIVO          |
| 21       | 58         | H    | TALLO CEREBRAL | ANAPLASICO              | -             | MUERTO        |
| 22       | 39         | F    | SUPRATENTORIAL | BAJO GRADO              | -             | MUERTO        |
| 23       | 85         | H    | TALLO CEREBRAL | ANAPLASICO              | -             | MUERTO        |
| 24       | 36         | F    | INFRATENTORIAL | BAJO GRADO              | -             | MUERTO        |
| 25       | 103        | H    | SUPRATENTORIAL | BAJO GRADO              | -             | VIVO          |
| 26       | 69         | F    | INFRATENTORIAL | BAJO GRADO              | -             | MUERTO        |
| 27       | 132        | H    | SUPRATENTORIAL | BAJO GRADO              | -             | VIVO          |
| 28       | 149        | H    | INFRATENTORIAL | BAJO GRADO              | -             | VIVO          |
| 29       | 51         | F    | INFRATENTORIAL | BAJO GRADO              | -             | VIVO          |

|    |     |   |                |            |   |      |
|----|-----|---|----------------|------------|---|------|
| 30 | 38  | F | SUPRATENTORIAL | BAJO GRADO | - | VIVO |
| 31 | 144 | H | SUPRATENTORIAL | BAJO GRADO | - | VIVO |
| 32 | 66  | H | INFRATENTORIAL | BAJO GRADO | - | VIVO |
| 33 | 86  | H | INFRATENTORIAL | BAJO GRADO | - | VIVO |
| 34 | 38  | F | INFRATENTORIAL | ANAPLASICO | - | VIVO |
| 35 | 62  | F | INFRATENTORIAL | ANAPLASICO | - | VIVO |



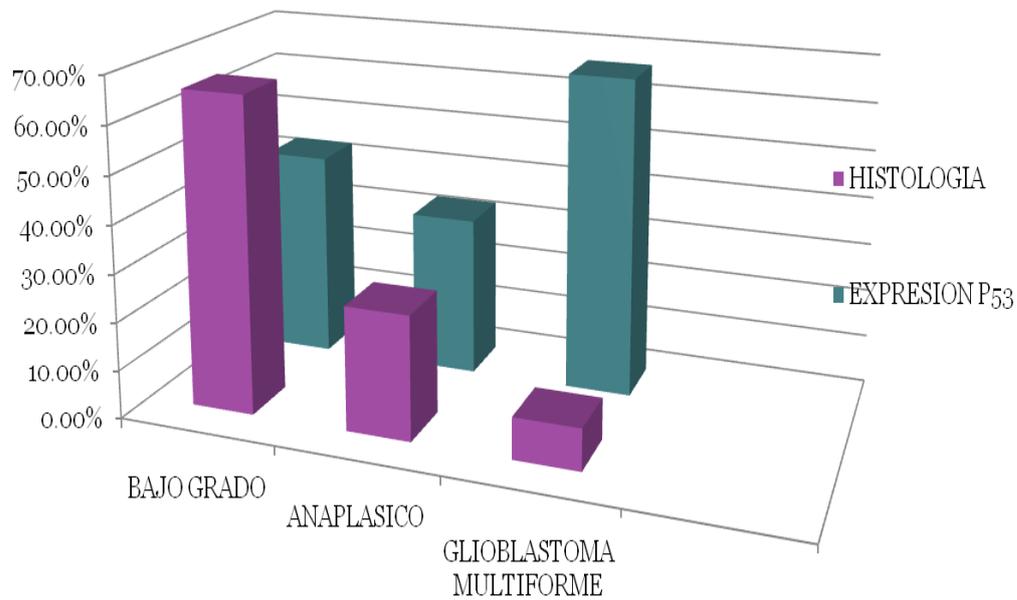


Tabla I. Factores Riesgo de Muerte en Niños con Astrocitoma

|   | <b>OR</b> | <b>95% Intervalo de Confianza</b> |       | <b>P =</b> |
|---|-----------|-----------------------------------|-------|------------|
| <b>Sexo</b> (Mujer)   | 1.165     | 0.677                             | 2.003 | 0.418*     |
| <b>Edad</b> (<36meses)  | 2.114     | 1.01                              | 4.424 | 0.165*     |
| <b>Histologia</b><br>(Astrocitoma anaplásico o Glioblastoma Multiforme) | 2.217     | 0.961                             | 5.117 | 0.026**    |
| <b>Localización</b><br>(Tallo Cerebral)                                 | 1.467     | 0.516                             | 4.17  | 0.109*     |
| <b>P53</b><br>(Sobreexpresión)  | 1.67      | 0.811                             | 2.193 | 0.315*     |

\*Fisher exact test

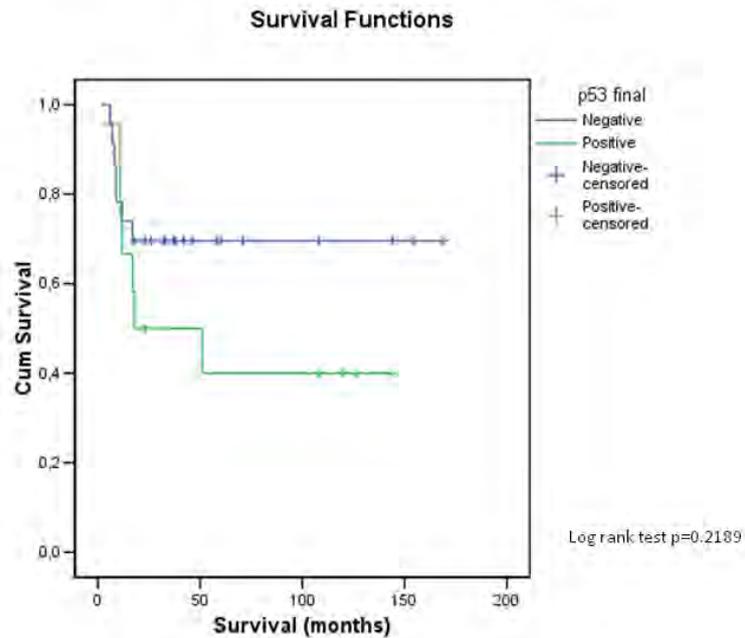
\*\*Chi square test

TABLA II. Análisis de Regresión Múltiple

|   | Unstandardized Coefficients |            | Unstandardized Coefficients | t      | Sig. |
|---|-----------------------------|------------|-----------------------------|--------|------|
|   | B                           | Std. Error | Beta                        |        |      |
| <b>Sexo</b> (Mujer)   | ,068                        | ,155       | ,069                        | ,435   | ,667 |
| <b>Edad</b> (<36meses)  | -,535                       | ,248       | -,348                       | -2,161 | ,039 |
| <b>Histología</b><br>(Astrocitoma anaplásico o Glioblastoma Multiforme) | ,495                        | ,168       | ,479                        | 2,947  | ,006 |
| <b>Localización</b><br>(Tallo Cerebral)                                 | -,084                       | ,184       | -,078                       | -,457  | ,651 |
| <b>P53</b> (Sobreexpresión)   | ,112                        | ,159       | ,114                        | ,700   | ,490 |

Dependent Variable: Status (deceased)

FIG. 2. SURVIVAL ACCORDING TO P53 OVEREXPRESSION



## DISCUSIÓN

---

Aunque se han probado diferentes abordajes terapéuticos alrededor del mundo para mejorar la supervivencia a largo plazo en pacientes pediátricos con gliomas malignos, esta no excede el 60%. Es bien conocido que tumores histológicamente idénticos tienen diferentes comportamientos biológicos y muestran distintos marcadores biológicos lo que sugiere que estos tumores son un grupo heterogéneo de la misma enfermedad.

El conocimiento de los diferentes mecanismos biológicos implicados en el crecimiento y progresión tumoral alienta hacia un mejor sistema de estratificación. La separación en grupos de riesgo de acuerdo a marcadores moleculares permitirá realización de nuevos protocolos terapéuticos, con intensificación de tratamientos quimio y radioterapéuticos para aquellos pacientes ubicados en el grupo de alto riesgo, permitiendo dar tratamientos menos tóxicos a aquellos pacientes de grupos de bajo riesgo. Adicionalmente, el identificar marcadores moleculares puede conducir al desarrollo de drogas dirigidas, lo que, en combinación con la QT y RT puede ofrecer a los pacientes con astrocitoma y glioblastoma un mejor pronóstico.

La importancia de identificar células de iniciación en tumores cerebrales es que ofrece conocimiento acerca de la fisiopatología en pacientes pediátricos con tumores cerebrales, provee una nueva visión o idea de los mecanismos de resistencia de los tejidos cancerosos a los tratamientos actuales, identificando nuevos blancos celulares para el tratamiento.

La sobreexpresión de p53 en gliomas pediátricos malignos ha sido previamente reportada por Pollak et al y Ganigi PM et al. Aunque En nuestra serie, la prevalencia de la sobreexpresión de esta proteína fue ligeramente más baja que la reportada por Ganigi, esta es similar a la reportada por Pollack (34% vs 53.7% y 35.6% respectivamente), confirmamos que el hallazgo de ambos autores que los pacientes con sobreexpresión de p53 presentan un peor pronóstico (en nuestra serie, 69% en aquellos niños que no expresan p53 están vivos Vs 40% de los que sobreexpresan p53). Nuestro porcentaje de supervivencia es mayor que el reportado por el Children's Cancer Group en el 2002 (44% y 17% respectivamente) y puede deberse a los diferentes protocolos quimioterapéuticos y de radiación, con una distribución desigual de astrocitomas de bajo grado y glioblastomas malignos en ambas muestras.

En contraste con Pollack et al, encontramos que los niños por debajo de 4 años de edad no sobreexpresaron p53 de una manera menos frecuentes que los mayores de 4 años (44% vs 30% respectivamente). De manera similar, edades menores a 3 años continúan siendo una variable independiente importante, como estos niños no pueden recibir RT durante su tratamiento por el riesgo de importante daño neurológico con la radiación en un cerebro en desarrollo.

La asociación entre sobreexpresión de p53 y la histología tumoral ha sido también previamente identificada, siendo mucho más frecuente en glioblastomas que en astrocitomas anaplásicos o gliomas mixtos. En nuestra serie, encontramos un riesgo 4.4 veces mayor de tener glioblastoma multiforme si se sobreexpresa p53, aunque estos resultados deben ser tomados con cautela por el pequeño número de muestra.

Aunque la sobreexpresión de p53 no fue estadísticamente significativa, significancia clínica, pues aquellos pacientes que la mostraron tuvieron una supervivencia menor, siendo en aquellos que sobreexpresaron la proteína p53 28% menor comparada con los que no la sobreexpresaron.

Se intentó hacer un análisis de la evolución del paciente tras la resección quirúrgica, así como luego de haber recibido quimioterapia y/o radioterapia, sin embargo, se cuenta con información insuficiente e incompleta en los expedientes, pues algunos paciente

cuentan con registro del tamaño tumoral determinado mediante estudio tomográfico antes de la cirugía o QT ó RT pero no se registran mediciones en su seguimiento por lo que no fue posible hacer el análisis y para poder evaluar si la respuesta al tratamiento también se asocia a la sobreexpresión de p53.



## BIBLIOGRAFIA

---

1. Lopez-Aguilar E, Cerecedo-Díaz F, Sepúlveda-Vidosola AC. Astrocitomas en pediatría. Factores Pronósticos y sobrevida. *Gac Med Mex* 1999;133:231-235
2. López-Aguilar E. Tumores Cerebrales. Algunos aspectos epidemiológicos, cuadro clínica y tratamiento. Tumores del Sistema Nervioso Central en Pediatría *SIOP 2007 Abstract 47* )
3. Farinotti M, Ferrarini M, Solari A, Filippini G. Incidence and Survival of Childhood CNS tumours in the Region of Lombardy, Italy. *Brain* 1998;121:1429-1436
4. Franco-Hernández C, Martínez-González V, Rey J.A. Biología molecular de los glioblastomas. *Neurocirugía* 2007;18:373-382
5. Cohen ME, Duffner P. Brain tumors in children. 2th edition. Raven Press. 1998
6. Lanzkowsky Philip. Manual of Pediatric Hematology and Oncology. *Elseiver* 5a Edición.
7. Broniscer A, Gajjar A. Supratentorial High-Grade Astrocytoma and Diffuse Brainstem Glioma : Two Challenges for the Pediatric Oncologist. *The Oncologist* 2004;9:197-206
8. Pollack IF. Diagnosis and Therapeutic Stratification of Childhood Brain Tumors: Implications for Translational Research. *Journal of Child Neurology* 2008;23:1179-1185
9. Rivera LR, López E, Rivera MH, et al. Survival of children under 3 years old with medulloblastoma: a study from the Mexican Cooperative Group for Childhood Malignancies (AMOHP) . *Child's Nerv Syst* 2002; 18: 38-42
10. Nozaki M, Tada M, Kobayashi H, et al. Roles of the functional loss of p53 and other genes in astrocytoma tumorigenesis and progresión. *Neuro Oncology* 1999; 1: 124 -137
11. Harris.CC, Hollstein.M. Clinical implications of the *p53* tumor-suppressor gene. *N. Engl. J. Med* 1993; 329: 1318-1327
12. Montenarh M. Biochemical properties of the growth suppressor/ oncoprotein p53. *Oncogene* 1992;7: 1673-1680
13. Harris.C.C. p53: At the crossroads of molecular carcinogenesis and cancer risk assessment. *Science* 1993; 262: 1980-1981)

14. Vogelstein,B., Kinzler.KW. p53 Function and dysfunction. *Cell* 1992; 70: 523-526
15. Levine AJ, Momand J, Finlay CA.The p53 tumor suppressor gene. *Nature* 1991; 351: 453-456
16. Oren M. p53: The ultimate tumor suppressor gene? *FASEB J* 1992; 6: 3169-3176
17. Fromental CC, Soussi T. TP53 tumor suppressor gene: a model for investigating human mutagenesis. *Genes Chromosom. Cancer* 1992;4:1-15
18. Rotter V, Prokocimer M. p53 and human malignancies. *Adv. Cancer Res* 1991; 57: 257-272
19. Erill N, Colomer A, Verdù M, et al. Genetic and immunophenotype analyses of TP53 in bladder cancer. *Diagn Mol Pathol* 2004; 13: 217-223
20. Hernández FC, Martínez GV, Rey JA. Biología molecular de los glioblastomas. *Neurocirugía* 2007;18:373-382
21. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, et al. p53 Mutations in human cancers. *Science* 1991; 253: 49-53.
22. US Mortality Files, National Center for Health Statistics, Centers for Disease Control and Prevention. Cancer Statistics Review 1975-2006 National Cancer Institute
23. Watanabe T, Nakamura M, Kros JM, Burkhard C, Yonekawa Y, Kleihues P. Phenotype versus genotype correlation in oligodendrogliomas and low-grade diffuse astrocytomas. *Acta Neuropathology* 2002;103:267-275
24. Ständer M, Peraud A, Leroch B, et al. Prognostic impact of TP53 mutation status for adult patients with supratentorial World Health Organization Grade II astrocytoma or oligoastrocytoma. *Cancer* 2004;101:1028-1035.
25. Okamoto Y, Di Patre PL, Burkhard C, Horstmann S, Jourde B, Fahey M, Schüler D, Yonekawa Y. Population-based study on incidence, survival rates, and genetic alterations of low-grade diffuse astrocytomas and oligodendrogliomas. *Acta Neuropathology* 2004;108:49-56
26. Cordon-Cardo C, Dalbagni G, Saez GT, et al. P53 mutations in human bladder cancer: genotypic versus phenotypic pattern. *Int J Cancer*. 1994;56:347-353.
27. Wallace B, Lowe SW. Clinical implications of p53 mutations. *Cell Mol Life Sci.* 1999;55:64-75

28. Colomer A, Erill N, Montse, et al. Lack of p53 nuclear immunostaining is not indicative of absence of TP53 gene mutations in colorectal adenocarcinomas. *Applied Immunohistochemistry and Molecular Morphology* 2003;11:130-137
29. Wang J, Ouyang W, Li L, et al. Loss of tumor suppressor p53 decreases PTEN expression and enhances signaling pathways leading to activation of activator protein 1 nuclear factor KB induced by UV radiation. *Cancer Res* 2005;65:6601-6611
30. Alarcon D, Vargas, Ronai. P53-Mdm2-the affair that never ends. *Carcinogenesis* 2002;23:541-547
31. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. *Acta Neuropathol* 2007;114:97-109
32. Lanzkowsky Philip. *Manual of Pediatric Hematology and Oncology. Elsevier 5a Edición*
33. Prat AR, Galeano SI. Opciones terapéuticas del astrocitoma de bajo grado supratentorial en el adulto. *Arch Neurocién Mex* 2008; 13: 35-42
34. Muñoz CD, Faga CC, Márquez G-SM, Gómez MJ. *Nuevas Perspectivas en el tratamiento paliativo del glioblastoma multiforme y astrocitoma anaplásico recidivado con implantes de carmustina. Oncología, 2005; 28 (5):249-257*



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**  
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

---

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

México DF, a \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2009

Por medio de la presente autorizamos que nuestro hijo(a) \_\_\_\_\_ participe en el proyecto de investigación titulado "CORRELACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE p53 CON LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO Y SOBREVIDA DE PACIENTES CON ASTROCITOMA", que ya fue registrado ante la Comisión Nacional de Investigación Científica del IMSS con el número \_\_\_\_\_.

El objetivo del estudio es determinar si existe asociación entre la expresión de p53 con la supervivencia de pacientes con astrocitoma de bajo y alto grado, así como con la supervivencia global y libre de progresión. También se pretende determinar si la expresión del gen supresor de tumores p53 influye en la respuesta al tratamiento y si existe asociación entre su expresión con el patrón de histología tumoral, así como con la localización.

Se nos ha explicado sobre el tipo de participación que se requiere, se me informa que se requiere estudiar el tejido ya obtenido del astrocitoma extirpado a mi hijo y que se mantiene en bloques de parafina ó en el banco de tejidos tumorales del hospital de Pediatría, con el objetivo de realizar en estas técnicas de biología molecular, como la inmunohistoquímica en búsqueda de la expresión del gen supresor de tumores p53. Entendemos que el estudio no implica ya mayor abordaje o invasión a nuestro hijo, pues se utilizará el tejido ya obtenido durante la cirugía.

Los investigadores responsables se han comprometido a aclarar cualquier duda que tengamos sobre los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con el tratamiento de nuestro hijo(a).

Hemos sido informados de que la participación en el estudio es voluntaria y podemos retirar a nuestro hijo(a) en cualquier momento, incluso aunque ya hayamos firmado esta carta, y sin que esto repercuta en la atención médica que recibimos del IMSS. De la misma manera, se nos ha ofrecido que la información derivada del estudio será confidencial.

Entendemos que por el momento nuestro hijo(a) tal vez no tenga ningún beneficio directo de este estudio, pero que si los resultados finales son como se esperan, se podría contar con un nuevo abordaje diagnóstico y una nueva modalidad terapéutica que mejore el pronóstico de los pacientes con astrocitoma.

**Objetivo del Estudio: Determinar si la expresión de la molécula de p53 en los astrocitomas de pacientes pediátricos se asocia con el pronóstico de éstos**

A t e n t a m e n t e.

---

Nombre y firma del Padre

o tutores o representantes legales

Nombre y firma de la Madre

---

(Testigo)

---

(Testigo)

---

**Investigador principal**

Dr. Javier Enrique Lòpez Aguilar  
Unidad de Investigación Médica en Tumores  
de Sistema Nervioso Central  
Hospital de Pediatría. CMN SXXI.

---

**Investigador Asociado**

Tel. 56 27 69 00 Ext. 22500

ANEXO 2

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

**CORRELACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE p53 CON LA RESPUESTA AL  
TRATAMIENTO Y SOBREVIDA DE PACIENTES CON ASTROCITOMA**

Folio \_\_\_\_\_

Nombre \_\_\_\_\_

Filiación \_\_\_\_\_

Edad : Años \_\_\_\_\_ Meses \_\_\_\_\_

Sexo Masculino ( ) Femenino ( )

Diagnostico \_\_\_\_\_

PQ \_\_\_\_\_

Localización \_\_\_\_\_

Fecha de diagnostico \_\_\_\_\_

Edad al diagnostico \_\_\_\_\_

Fecha de ultima cita \_\_\_\_\_

Fecha de recaida \_\_\_\_\_

Fecha de defunción \_\_\_\_\_

Causa de defunción: \_\_\_\_\_

Sobreexpresión de p53 :

Positiva ( ) Negativa ( )

QT recibida \_\_\_\_\_

Radioterapia si ( ) No ( )

Numero de sesiones \_\_\_\_\_ Gy \_\_\_\_\_