

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE PEDIATRIA

TESIS PARA OBTENER EL TITULO EN ONCOLOGIA PEDIATRICA:

**ASOCIACIÓN DE LA SOBREENPRESIÓN DE EGFR CON LA HISTOLOGIA Y
EL PRONÓSTICO EN PACIENTES CON ASTROCITOMAS EN EDAD
PEDIÁTRICA.**

PRESENTA:

TUTOR: DR. J. ENRIQUE LOPEZ AGUILAR¹

TESISTA: DRA. AMIRA YAZMIN CORTES MEDINA²

COTUTOR: DRA. ANA CAROLINA SEPULVEDA VILDOSOLA³

COLABORADOR: DRA. GEORGINA SIORDIA REYES⁴

¹ MEDICO ON COLOGO PEDIATRA JEFE DE SERVICIO DE ONCOLOGIA DEL CMN SIGLO XXI

² MEDICO RESIDENTE DE ONCOLOGIA PEDIATRICA

³ JEFA DE ENSEÑANZA DEL HOSPITAL DE PEDIATRIA CMN SIGLO XXI

⁴ MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE PATOLOGA DEL HP CMN SIGLO XXI



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.

INDICE DE CONTENIDO	
RESUMEN	3
MARCO TEORICO	4
JUSTIFICACION	14
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
OBJETIVO GENERAL	16
OBJETIVOS ESPECIFICOS	16
HIPOTESIS	16
MATERIAL Y METODOS	17
RESULTADOS	20
DISCUSION	23
CONCLUSIONES	26
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	27
ANEXOS	29

ASOCIACIÓN DE LA SOBREENPRESIÓN DE EGFR CON LA HISTOLOGIA Y EL PRONÓSTICO EN PACIENTES CON ASTROCITOMAS EN EDAD PEDIÁTRICA.

Dr. J. Enrique López Aguilar, Dra. Ana C. Sepúlveda Vildosola, Dra. Georgina Siordia Reyes, Dra. Amira Y. Cortes Medina.

Introducción: La incidencia en México de los tumores del sistema nervioso central (SNC) en la infancia es de aproximadamente 17 casos por millón por año. Representan el tumor sólido más común de la niñez y la causa principal de muerte por cáncer. Dentro de los tumores del SNC, los astrocitomas son los más frecuentes representando al 45-55% del total.

Objetivos: determinar la asociación entre la sobreexpresión del EGFR con el grado histológico de los astrocitomas y la sobrevida de los pacientes pediátricos con astrocitomas.

Material y métodos: Estudio retrospectivo, observacional, longitudinal y de asociación entre los grados histológicos, la sobrevida de los pacientes y la sobreexpresión o no del EGFR. Se revisaron los expedientes de los pacientes con astrocitoma, durante los años 1998-2008, independientemente del grado histológico, y se solicitaron las muestras de tejido tumoral para someterlas a pruebas de inmunohistoquímica.

Resultados: se analizaron 40 muestras, de las cuales 18 pacientes fueron hombres y 22 mujeres (55%). 30 tumores fueron astrocitomas de bajo grado y 10 de alto grado. De acuerdo a la localización tumoral 37.5% fueron supratentoriales, 35% en cerebelo, 25% en tallo cerebral y 2.5% en tálamo. En relación al estado actual 60% están vivos (24 pacientes) y 40% han fallecido. En relación a la sobreexpresión de EGFR 6 pacientes lo expresaron y cinco de los seis se encontraron en tallo cerebral, así como por la histología 3 fueron de bajo grado y 3 de alto grado. La sobrevida asociada a la expresión del EGFR fue del 33%, $p=0.0635$.

Discusión: al igual que en la literatura mundial, se encontró bajo porcentaje de asociación en la sobreexpresión del EGFR para con los astrocitomas.

Conclusiones: no existe asociación significativa para la expresión de EGFR y el grado histológico, pareciera que la hay para la sobrevida, sin embargo, la pequeña muestra de positividad crea un sesgo.

INTRODUCCION

A. TUMORES DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

La incidencia en México de los tumores del sistema nervioso central (SNC) en la infancia es de aproximadamente 17 casos por millón por año en niños menores de 15 años de edad. Son el segundo tipo más común de cáncer pediátrico después de las leucemias, representando el tumor sólido más común de la niñez y la causa principal de muerte por cáncer. ¹

El número de tumores del SNC durante niñez y la adolescencia ha ido en aumento en forma constante. La tasa de mortalidad casi se ha duplicado en los últimos 25 años siendo actualmente del 40%. ²

Aproximadamente 30.000 a 40.000 niños desarrollan tumores del SNC cada año a nivel mundial, y el 60% sobrevive. En muchos países, los tumores del SNC representan el desafío más grande de la Oncología Pediátrica.

La búsqueda de nuevos enfoques al tratamiento de los tumores cerebrales en la niñez se basa en la importancia de conocer su biología molecular; para poder entender el comportamiento de éstos y de esta forma dar un tratamiento más dirigido. ³

La definición convencional de tumores del SNC es generalmente aplicada a tumores del cerebro y la medula espinal. Sin embargo, la Clasificación Internacional de Enfermedades para Oncología Tercera Edición (ICD-O-3 por sus siglas en inglés) definió a los tumores de las meninges, glándula pituitaria, pineal y de los nervios periféricos como parte de los tumores del SNC. Los tumores cerebrales son definidos como neoplasias del parénquima cerebral en base al ICD-O-3. ⁴

La clasificación de los tumores del CNS se basa en la histología y la localización.

La distribución por frecuencia de los tumores cerebrales de la niñez es: astrocitomas (52%); tumor neuroectodermico primitivo (PNET) (21%); ependimomas (9%); y otros gliomas (15%).³

Los astrocitomas constituyen el grupo más frecuente de neoplasias del SNC tanto en los niños como en adultos, con 2 picos de presentación entre 5-6 y de 12-13 años de edad y a diferencia de los adultos, los gliomas de bajo grado (GBG) suponen la mayor parte de estas neoplasias en los niños.

Se sabe poco de la oncogénesis de los gliomas de alto grado (GAG) en los niños. Aunque algunas anomalías moleculares identificadas en los GAG de los niños son semejantes a las del glioblastoma secundario de los adultos y éstas rara vez se originan a partir de GBG preexistentes.⁵

La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó en cuatro grados de malignidad, del grado I al IV, a los astrocitomas. Los tumores de bajo grado (grado I y II) se diferencian de los de alto grado (grado III y IV) por ausencia de pleomorfismo celular, elevada densidad celular, actividad mitótica y necrosis.¹

La clasificación de la OMS modificada para pediatría de los tumores cerebrales se basa en los conceptos histogenéticos y morfológicos considerados por Bailey:

1. Tumores gliales: astrocitomas, oligodendrogliomas Ependimomas, carcinoma de plexos coroides, gliomas mixtos.
2. Tumores neuronales: gangliomas, gangliocitomas, gangliogliomas anaplasticos.
3. Tumores neuroectodermicos primitivos: meduloblastomas, meduloepiteliomas.
4. Tumores de la pineal: pineocitoma, pinealoblastoma.⁶

B. ASTROCITOMAS

Existe una clasificación de los astrocitomas propuesta por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en bajo grado (I y II) y de alto grado (III y IV).

Tipos Histológicos:

- ❖ Astrocitoma pilocítico tiene un fondo fibrilar, mitosis raras, y, fibras de Rosenthal. Comportamiento benigno, bien circunscritos de crecimiento lento (grado I).
- ❖ Astrocitoma difuso o fibrilar es más celular e infiltrativa y más propensos a experimentar el cambio anaplásico (grado II).
- ❖ Astrocitoma anaplásico es muy celular con atipia celular significativa. Es localmente invasivo y agresivo (grado III).
- ❖ El glioblastoma multiforme (GBM) demuestra el aumento de anaplasia nuclear y células gigantes multinucleadas (grado IV).⁷⁻⁸

Los astrocitomas representan el mayor porcentaje de tumores sólidos en la población pediátrica con aproximadamente 40% de todos los tumores cerebrales.⁹

El astrocitoma de bajo grado con su subtipo histológico más común el astrocitoma pilocítico juvenil es el más común en niños. El pronóstico es muy bueno, aunque algunos recurren como una lesión maligna que llega a ser en ocasiones fatal. La localización más frecuente de estos tumores es predominantemente en la fosa posterior y en el tallo cerebral.

Los astrocitomas esporádicos pueden presentarse en cualquier parte del SNC, y dependiendo de su localización, a menudo son susceptibles a resección quirúrgica completa.

Los gliomas malignos en los niños tienen un pronóstico más favorable en comparación con los pacientes mayores, esto implica diferencias en la biología tumoral relacionada con la edad del paciente y/o interacciones huésped-tumor.⁷

Muchas características importantes distinguen a estos tumores de su contraparte en adultos.¹⁰

Los GAG son los tumores cerebrales primarios más comunes en adultos, representan aproximadamente el 5% de los tumores cerebrales primarios observado en los pacientes pediátricos. A la inversa, los GBG son más frecuentes en niños que en adultos.

Las neoplasias que surgen del compartimento infratentorial son más comunes en niños, particularmente aquellos mayores de un año de edad, a diferencia de los adultos, cuya localización primaria es supratentorial.¹⁰

Los astrocitomas pilocíticos son diferentes entidades con respecto a los astrocitomas fibrilares, los cuales son más infiltrativos y tienen una habilidad de someterse a transformación maligna. Esta diferencia clínica, en relación con el pronóstico, es controversial.

Los astrocitomas pilocíticos son los tumores cerebrales primarios más frecuentes en pediatría. Los síntomas de presentación dependen del sitio del tumor y de la edad del paciente. Para todos los gliomas de bajo grado, las áreas que comúnmente afectan y el porcentaje que representan entre los tumores cerebrales primarios infantiles son: cerebelo (12-18%), hemisferios cerebrales (8-20%), vía óptica/hipotálamo (3-5%), tallo cerebral (3-6%), y tálamo. Raramente se originan en la medula espinal y representan el 70% de todos los tumores de la medula espinal.⁹

La cirugía es el tratamiento inicial en la mayoría de los casos con el objetivo de obtener la confirmación histológica y la resección máxima posible del tumor. El grado de resección quirúrgica varía significativamente de la localización y el

subtipo. Si la resección quirúrgica es radical (>90%) se refiere una sobrevida global a 10 años que excede 90%.

El 20% del total de astrocitomas está representado por astrocitoma anaplásico y glioblastoma multiforme, surgen dentro de los hemisferios cerebrales o cerebelares. Los factores de riesgo asociados a mejor sobrevida en los niños con estos tumores incluyen: resección tumoral > 90%, localización en hemisferio cerebral, grado histopatológico 1 vs 4, menor edad, uso de quimio-radioterapia posterior a la cirugía y crisis convulsivas al diagnóstico. Sin embargo el comportamiento de estos tipos de tumores sigue siendo impredecible y su pronóstico pobre aun.¹¹

El glioblastoma multiforme comprende el 5-10% de las neoplasias infantiles intracraneanas.⁸ Algunos estudios han sugerido diferencias entre la oncogénesis de los GBMs de novo en los niños comparados con adultos.¹²

HISTOPATOLOGIA Y BIOLOGIA MOLECULAR DE LOS ASTROCITOMAS

En la última década los estudios en biología molecular han avanzado considerablemente, lo cual ha mejorado nuestro entendimiento sobre los tumores cerebrales en humanos, especialmente en niños. Ahora sabemos que la mayoría de los tumores cerebrales pediátricos surgen de una alteración en el desarrollo de la regulación en las vías de señalización.¹³

Comparado con el extenso trabajo que ha sido realizado para identificar las características moleculares de los gliomas malignos en adultos, poco se ha reportado sobre las características en los gliomas pediátricos.

Debido a factores genéticos individuales, el comportamiento clínico en los pacientes en la edad pediátrica varia aun dentro del mismo tipo de tumor del sistema nerviosos central, esto presenta la problemática de estratificar por grupos de riesgo basados en edad, localización, extensión de la resección, efecto de la quimioterapia y la radioterapia, por lo que es necesario la búsqueda de nuevos parámetros favorecidos por los avances en la aplicación de la biología molecular,

que permitan predecir con mayor precisión la evolución clínica y la supervivencia.

14

Rickert y Paulus en 2005 realizan estudios sobre marcadores moleculares por técnica de inmunohistoquímica de los tumores del sistema nervioso central en niños y adolescentes, observando que ciertos marcadores mostraron un valor estadístico significativo en cuanto al pronóstico ($P < 0,05$) en los Astrocitomas.¹⁵

FACTORES PRONÓSTICOS MOLECULARES

La expectativa de vida de estos pacientes depende de varios factores tales como la histología, la localización, los factores de crecimiento celular, el índice mitótico y el análisis de alteraciones moleculares.¹⁶

El desarrollo de la biología molecular ha dado lugar a la búsqueda de marcadores moleculares que puedan predecir el curso clínico, valorar respuesta al tratamiento y mejorar la clasificación de los tumores en cuanto pronóstico y tratamiento.

Los factores que influyen de forma negativa en el pronóstico son: la aneuploidía, la sobre-expresión de p53 y mutación de TP53, así como el desequilibrio en el balance cromosómico (ganancia de 1q en el Astrocitoma Anaplásico).¹⁴

La aplicación en la clínica de la biología molecular con muestras representativas y estudios prospectivos de cohortes de pacientes, va permitir una estratificación biológica del comportamiento tumoral que puede apoyar una estratificación terapéutica adaptada al factor pronóstico y determinar también nuevas pautas terapéuticas que eviten tratamientos agresivos e innecesarios; a su vez, el conocimiento de los distintos marcadores moleculares de los tumores del SNC permitirá en un futuro inmediato su utilización como dianas terapéuticas que actúen sobre las vías genéticas implicadas.¹⁴

Una investigación realizada por Rickert y cols en el 2005, investigaron en 43 tumores astrocíticos de diferentes grados, la correlación entre el pronóstico y el potencial proliferativo medido por el índice marcado (LI) por bromodeoxiuridina (BrdU). La elevación de BrdU LI, independientemente del grado de tumor, se

correlacionó con una sobrevida corta ($P=0.0001$), mientras que su asociación con los astrocitomas de alto grado y la sobrevida corta, fue menor aunque significativa ($P=0.019$), indicando que BrdU LI es un factor pronóstico significativo para los niños con astrocitoma. ¹⁷

El antígeno Ki67 es una proteína nuclear de gran tamaño que interviene en el mantenimiento del ciclo celular, es considerado un marcador de la proliferación en células neoplásicas; su detección se realiza por inmunohistoquímica. Se correlaciona con el grado y estadio tumoral; la expresión de Ki67 es un marcador pronóstico independiente de recidiva y progresión. La determinación del Ag Ki67 permite diferenciar grupos de mayor agresividad, que justificaría en ellos una terapia más agresiva. ¹⁶

La mayoría de los trabajos que han sido publicados en astrocitomas pediátricos involucra al gen supresor de tumor TP53. ¹²Pollack et al (1997) demostraron que la mutación en los exones 5-8 del gen p53 o la sobreexpresión del p53 fue asociado con la disminución de la sobrevida. ³

Bcl2 es una proteína involucrada en la inhibición de la apoptosis y la sobreexpresión de la misma se ha observado en diferentes tumores, en los del sistema nervioso central, se ha relacionado con histologías desfavorables y con quimio y radio resistencia. ¹⁸Bcl-2 ha mostrado ser un potente inhibidor de la transducción de señal apoptótica postmitocondrial que está significativamente sobreexpresada en los glioblastomas primarios. ¹⁹

En el hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI se estudiaron 38 pacientes, trece de los cuales (34.2%) sobre expresaron Bcl2 y 25 (65.7%) no lo expresaron. Aquellos con Bcl2 positivo tuvieron una sobrevida de 29% mientras que los pacientes que no lo sobre expresaron la sobrevida fue de 64%, ($p= 0.97$). La sobreexpresión de BCL2, aunado a la biopositividad de otros marcadores, nos puede determinar el empleo de un esquema de quimioterapia más intensivo con respecto de los pacientes con tumores que sean negativos a estos marcadores. ¹⁸

En otro estudio de astrocitomas pediátricos en el CMN Siglo XXI se incluyeron 35 pacientes predominando los astrocitomas de bajo grado, 23 pacientes (65.7%) y a diferencia de nueve pacientes (25.7%) con astrocitoma anaplásico y 3 (8.6%) de glioblastoma multiforme. 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%), estaban vivos al momento del estudio. De los 12 pacientes que sobreexpresaron p53, solo 5(41.6%) estaban vivos al concluir el estudio ($p=0.109$). La sobrevida para los pacientes sin sobreexpresión de p53 fue de 69.5% a 120 meses, contra 40% a 120 meses para aquellos con sobreexpresión de p53. El riesgo (OR) de desarrollar glioblastoma multiforme cuando existe sobreexpresión de la proteína p53 es de 4.4 (0.356 – 54.36).²⁰

Entre los diversos marcadores biomoleculares que influyen en el pronóstico de los tumores del SNC están los factores de crecimiento celular que son proteínas que en condiciones fisiológicas regulan el crecimiento y la diferenciación celular. La sobre expresión de estas se asocia por lo general a una mayor agresividad biológica y su identificación ha permitido el diseño de nuevas estrategias terapéuticas.²¹

Los factores de crecimiento pertenecen a una familia de polipéptidos que se unen a sus correspondientes receptores y estimulan la proliferación y diferenciación celular tanto en las células normales como en las malignas. Uno de los receptores de factores de crecimiento cuya unión a su ligando específico lleva a la proliferación celular es el EGFR cuyo gen se encuentra en el cromosoma 7p12.

La proteína del gen del EGFR se expresa en la superficie celular de la mayoría de las células y consta de tres dominios:

- a) Dominio extracelular de unión al ligando que está constituido por cuatro subdominios, de los cuales el dominio III es el responsable de la unión al ligando.
- b) Dominio transmembrana que contiene una secuencia de carácter hidrofóbico gracias a la cual atraviesa la membrana.

- c) Dominio intracelular en el que reside la actividad tirosín Kinasa del receptor y que también es el encargado de la regulación negativa del receptor. Posee cinco sitios de autofosforilación, necesarios para la internalización del receptor tras la unión del ligando.²²

Aunque solo algunos cuantos estudios han sugerido que los gliomas de novo pediátricos malignos raramente expresan una amplificación del gen EGFR y es más común que exhiban mutaciones del p53 observados en los gliomas secundarios la pregunta sigue siendo si los astrocitomas de la niñez se pueden clasificar en subtipos genéticos así como se ha hecho para astrocitomas en adultos.

Así mismo, pocos estudios se han conducido en astrocitomas de bajo grado de niños específicamente para determinar alteraciones genéticas más comunes asociadas a la progresión de astrocitomas en adultos.⁹

Similar a los GBM del adulto los cromosomas de doble-minuto en los cariotipos consistentes con la amplificación del gen EGFR junto con las alteraciones moleculares del factor de crecimiento epidérmico han sido encontrados en astrocitomas pediátricos.²³

Rickert et al., en el 2001 publicó amplificaciones del gen EGFR, en pacientes pediátricos del 8 al 20% a diferencia del 30% reportado en adultos,²⁴ evidenciando que los patrones de alteraciones genéticas en los glioblastomas primarios pediátricos son distintos de su contraparte en adultos.¹²⁻²⁴

La transducción de señales del EGFR impacta en muchos aspectos de la biología tumoral. La activación de EGFR ha mostrado que resalta el proceso de respuesta de crecimiento y progresión tumoral, incluyendo la promoción de la proliferación, angiogenesis y la capacidad de invasión y metástasis, así como la inhibición de la apoptosis. La expresión de EGFR en tumores ha sido correlacionada con progresión de enfermedad, pobre sobrevida, y mala respuesta al tratamiento, y el desarrollo de resistencia a los agentes citotóxicos. Altos niveles de EGFR han sido

observados en una variedad de tumores, incluyendo próstata, mama, gástrico, colorectal y ovario. Sin embargo, mecanismos diferentes a la expresión de EGFR afectan las señales del EGFR. Por ejemplo, mutaciones en el EGFR han sido observados en algunos tumores; la más común es la mutación de EGFRvIII, el que carece de un dominio externo de unión a ligando y tiene una activación tirosin quinasa constitutiva, aunque atenuada. EGFRvIII está comúnmente sobreexpresado como resultado de amplificación génica y ha sido identificada en cáncer de cerebro, pulmón, mama, próstata y estómago, sin haber aun sido halladas en células no malignas.

JUSTIFICACIÓN

Los tumores del Sistema Nervioso Central ocupan el segundo lugar de frecuencia del cáncer infantil. Los astrocitomas representan aproximadamente el 50- 60% de todos los tumores cerebrales en pediatría, con la mitad de ellos de alto grado.

La sobrevida actual de los pacientes pediátricos con astrocitomas es del 60% aproximadamente, a pesar de los grandes avances en el entendimiento de estos tumores y de los nuevos enfoques terapéuticos. El tratamiento de los astrocitomas pediátricos sigue siendo un reto para el oncólogo pediatra, debido al diferente comportamiento biológico que pueden presentar a pesar de compartir el subtipo histológico e incluso las mismas características clínicas y radiológicas.

De lo anterior, surge la importancia de determinar los marcadores moleculares y su correlación con la histología y el pronóstico, para realizar terapias dirigidas en aquellos pacientes que aun tienen una expectativa de vida muy corta.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen relativamente pocos estudios de los marcadores moleculares en los astrocitomas pediátricos, lo que ha señalado grandes diferencias entre el comportamiento biológico-clínico de los astrocitomas pediátricos en relación con los del adulto. Debido a que se requieren de más estudios que nos permitan identificar y diferenciar la expresión de los marcadores moleculares presentes en los astrocitomas para saber si intervienen en el pronóstico y poder manejarlos con nuevas estrategias terapéuticas.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe asociación entre la sobreexpresión del EGFR con el grado histológico y con el pronóstico de los pacientes pediátricos con astrocitomas?

OBJETIVOS

General

Determinar la asociación entre la sobreexpresión del EGFR con el grado histológico de los astrocitomas y la sobrevida de los pacientes pediátricos con astrocitomas.

Particular

Determinar la asociación entre la sobreexpresión de EGFR con el grado histológico de los astrocitomas pediátricos.

Determinar la sobreexpresión del EGFR con la sobrevida de los pacientes pediátricos con astrocitomas.

HIPOTESIS

La sobreexpresión del EGFR se correlaciona con un mayor grado histológico de astrocitomas.

El pronóstico de los pacientes con astrocitomas que sobreexpresan EGFR es 30% menor que en aquellos sin sobreexpresión del EGFR

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Se realizó un estudio retrospectivo; observacional, longitudinal y comparativo entre los grados histológicos de los astrocitomas con la sobreexpresión del EGFR, a su vez con la sobrevida.

Universo y Muestra

Corresponde a una cohorte de pacientes con el diagnóstico de astrocitoma, atendidos en el HP CMN Siglo XXI durante los años 1998 al 2008. En quienes se otorgaron según el grado de astrocitoma y dependiendo del año de diagnóstico protocolo de estudio y tratamiento diferentes.

Criterios de inclusión

1. Pacientes con diagnóstico de certeza (por patología) de astrocitoma.
2. Pacientes menores de 17 años de edad.
3. Sin tratamiento previo al momento de obtenerse la muestra del tejido tumoral.
4. Expediente completo para establecer curso clínico de la enfermedad.
5. Cumplimiento del tratamiento multimodal establecido por el servicio de Oncología del HP CMN Siglo XXI, correspondiente a cada grado histológico.

Criterio de eliminación

1. Muestra tumoral insuficiente o inapropiada para realización de estudio

Variable	Tipo de variable	Escala de medición	Definición conceptual	Definición operacional	Unidades de medición	Dependiente/independiente	Control
Edad	Universal	Cuantitativa: Continua	Tiempo de vida en años.	Edad cumplida en años	Años	Independiente	Fecha de nacimiento
Sexo	Universal	Cualitativa: Nominal	Características fenotípicas que califican al sujeto en género femenino o masculino	Género fenotípico	Masculino Femenino	Independiente	Fenotipo genital observado
Tumor localización	Universal	Cualitativa: Nominal	Localización intracraneal del tumor	Lugar que ocupa el tumor dentro del cráneo	Supratentorial Infratentorial Tallo cerebral	Independiente	Visualización del estudio de imagen
Histología tumoral	Dependiente	Cualitativa: Nominal	Categorización de la tumoración según características de malignidad con la clasificación de la OMS ⁴	Categorización de la tumoración según características e malignidad por patólogo que estableció el diagnóstico con la clasificación de la OMS ⁴	Bajo grado Astrocitoma anaplásico Glioblastoma multiforme	Independiente	Definición por un patólogo cegado de la intención el estudio y de los resultados de IHQ
Expresión EGFR	Independiente	Cualitativa: Ordinal	Observación de la tinción de inmunohistoquímica.	Tinción por inmunohistoquímica de las muestras	Negativo Positivo (>1% de la muestra)	Independiente	Observación por neuropatólogo o experto
Supervivencia	Dependiente	Cuantitativa: Continua	Tiempo transcurrido entre el diagnóstico inicial y la presentación de la muerte o de la última cita del paciente	Tiempo transcurrido entre el diagnóstico inicial y la presentación de la muerte o de la última cita del paciente	Meses	Dependiente	

Tamaño de muestra

Por conveniencia

Metodología para determinar la sobreexpresión del EGFR

Se obtuvo muestra del tejido tumoral la cual se mantenía conservada en parafina en el archivo histológico del servicio de patología. De esta muestra, un médico patólogo, ciego a la evolución del paciente, corroboró diagnóstico histológico y determinó el grado de malignidad con la escala de la OMS. Por otro lado se realizó por técnica de inmunohistoquímica la determinación la sobreexpresión del EGFR en el tumor. (Ver anexo 1)

DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO.

El presente estudio se realizó en el HP CMN Siglo XXI en el servicio de oncología, en el periodo comprendido del 1998 al 2008, con 2 años como mínimo de seguimiento para cada paciente, en el cual se incluyeron las muestras de los pacientes menores de 17 años con diagnóstico de Astrocitoma independientemente del grado histológico, a los cuales se les realizó mediante técnica de inmunohistoquímica la determinación de EGFR.

Las laminillas para la determinación del EGFR de la muestra tumoral, obtenida de la cirugía inicial, por inmunohistoquímica, se encontraban disponibles en el servicio de patología del HP CMN SXXI. El espécimen histopatológico obtenido de la cirugía inicial, está disponible en el servicio de patología del hospital de pediatría siglo XXI.

Se utilizó estadística descriptiva para caracterizar la muestra. Se determinó la Kurtosis y la Lordosis para establecer el tipo de estadística apropiada para el análisis. Se realizó curva de supervivencia con función de supervivencia Kaplan y Meier y se probó la diferencia entre los grupos con la prueba de Log Rank. Se realizó la prueba de Chi cuadrada y OR para determinar la asociación de las variables cualitativas.

RESULTADOS

En el presente estudio se analizaron un total de 51 pacientes, de los cuales se excluyeron 11, por no contar con bloques de parafina quedando un total de 40 pacientes.

De los 40 pacientes estudiados la mediana de edad fue de 5 años (1-15). El 57.5% de los pacientes (23 pacientes) eran menores de 5 años.

Por sexo, hubo 18 hombres (45%) y 22 mujeres (55%), con una relación hombre mujer de 0.8:1. (Tabla 1)

En cuanto a la distribución por histología; 30 tumores fueron astrocitomas de bajo grado (75%); doce de grado I (30%) y 18 de grado II (45%), y 10 de alto grado (25%), de los cuales 8 fueron grado III (20%) y 2 fueron grado IV (5%).

Por localización a nivel supratentorial fueron 15 (37.5%), en región talámica uno (2.5%), en cerebelo 14 (35%) y en tallo cerebral 10 (25%)

De acuerdo al tipo de cirugía 23 pacientes tuvieron resección parcial (57.5%), 11 tuvieron resección total (27.5%) y 6 fueron biopsiados solamente (15%).

Con respecto al estado actual, 24 pacientes están vivos (60%) y 16 han fallecido (40%). De acuerdo a la histología: 20 pacientes con astrocitoma de bajo grado están vivos (66%) y 10 han fallecido (33%), en los tumores de alto grado 4 pacientes están vivos (40%) y 6 han fallecido (60%).

En relación a la expresión de EGFR, seis tumores lo expresaron (15%) y 34 no lo expresaron (85%). De los pacientes que sobreexpresaron el EGFR cinco se encontraron en tallo cerebral (83%) y uno en cerebelo (17%). De los seis pacientes que expresaron EGFR, cuatro han fallecido (66%). (Tabla 2).

Por histología, de los seis pacientes que expresaron EGFR, 3 tumores fueron de bajo grado y 3 de alto grado.

La sobrevivencia de acuerdo al sexo, no tuvo significancia estadística ($p=0.578$). Del sexo femenino 13 están vivas y 9 fallecieron, en cuanto al sexo masculino; 11 están vivos y 7 fallecieron. Con una OR de 1.052

Al analizar si la localización se asocia con el grado histológico del tumor, encontramos que no existe asociación ($p=0.753$). De aquellos tumores de grado I (pilocítico), dos se localizaron en tallo cerebral, cuatro a nivel supratentorial y seis infratentoriales. Del grado II (fibrilar), una en región talámica, cuatro en tallo cerebral, seis a nivel supratentorial y siete infratentorial. Para el astrocitoma grado III (anaplásico), tres en tallo cerebral, cuatro a nivel supratentorial y uno infratentorial. Por último, los astrocitomas grado IV (glioblastoma multiforme), de los dos tumores, uno se localizó en región supratentorial y uno en tallo cerebral.

En cuanto al estado actual en relación al grado histológico, la distribución fue la siguiente: Grado I, 7 están vivos y 5 han fallecido. Del grado II; 13 de 18 pacientes están vivos. Del Grado III, de los ocho pacientes, cuatro están vivos. Y en el Grado IV, los 2 pacientes han fallecido, ($p=0.215$)

Según la positividad del EGFR, de acuerdo al grado histológico se encontró: de los 6 positivos para EGFR, un tumor pilocítico, dos tumores fibrilares, dos de histología anaplásica y un glioblastoma multiforme ($p=0.365$).

El estado actual de acuerdo a la localización del tumor, es el siguiente: el único tumor de tálamo se encuentra vivo, de los 10 tumores de tallo cerebral, cinco pacientes están vivos. Ocho pacientes con tumores supratentoriales están vivos y diez, de los 14 pacientes con tumores infratentoriales, se encuentran vivos aún. ($p=0.547$)

De acuerdo al tipo de resección quirúrgica el estado actual es el siguiente: los pacientes que se sometieron a resección quirúrgica parcial seis fallecieron y 17 están vivos. La resección quirúrgica completa en 11 pacientes, reportó seis pacientes vivos. En aquellos pacientes en los que se realizó únicamente la biopsia, 5 de seis pacientes fallecieron.

El análisis del estado actual según la expresión del EGFR fue el siguiente: de los 34 pacientes que no expresaron EGFR, 22 están vivos y 12 han fallecido. De los seis pacientes que sobreexpresaron EGFR, cuatro han fallecido ($p=0.160$)

La distribución de la expresión del EGFR de acuerdo a la localización tumoral es como sigue: cinco se encontraron en tallo cerebral y uno en región infratentorial ($p=0.004$)

La sobrevida global de los pacientes pediátricos con astrocitomas, en este estudio fue del 56%, (Figura 1).

La sobrevida de acuerdo al sexo: en las mujeres fue de 52% y para los hombres fue del 60%, $p=0.8996$. (Figura 2)

La sobrevida de acuerdo a la edad, fue del 29% para los menores de 3 años y para los mayores de 3 años del 63%, $p=0.0448$. (Figura 3)

La sobrevida de acuerdo al grado histológico es como sigue: 44% para los astrocitomas de Grado I, 72% en los de Grado II, 50% en el Grado III y 0% en el Grado IV, $p=0.1165$. (Figura 4)

En relación a la sobrevida en relación a la localización del tumor es: 100% para el tumor de tálamo, 50% para los tumores de tallo cerebral, 50% para los tumores supratentoriales y 71% para los infratentoriales, $p=0.5760$. (Figura 5)

El análisis de sobrevida de acuerdo al tipo de cirugía es: 67% en la resección parcial, 54% para la resección total y 16% en quienes se realizó biopsia, $p=0.002$. (Figura 6)

La distribución de sobrevida de acuerdo a la expresión del EGFR fue del 60% para los pacientes que no expresaron EGFR en la lesión tumoral y 33% para los que sobreexpresaron el receptor, $p=0.0635$. (Figura 7)

DISCUSION

La escasa literatura que existe sobre marcadores biológicos en astrocitomas pediátricos, en comparación con su contraparte en adultos, y su repercusión en la evolución, con diferentes resultados en los distintos marcadores y con distinta significación estadística a la hora de su valoración, cuando se aplican a la práctica clínica requiere hacerse con cierta cautela.

Sin embargo, y no obstante lo anterior, la pobre sobrevida lograda en los niños con tumores cerebrales, exige una rápida adquisición de conocimientos para un mayor para un mayor entendimiento de su comportamiento biológico y de esta forma poder ajustar de una manera mas dirigida un tratamiento.

Dado que el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) es una glucoproteína de transmembrana hallada inicialmente en células de origen epitelial y es un miembro de una familia de receptores de factores de crecimiento con actividad tirosín quinasa.²⁵ La unión de ligandos al receptor del factor de crecimiento desencadena una serie de respuestas celulares que eventualmente llevan a la proliferación celular. Estos “pathways intracelulares” son ahora el área principal de investigación en oncología ya que ellos participan en varios sistemas moleculares y mecanismos de carcinogenesis y progresión tumoral.²⁶

Lo interesante de esta factor es que posee una triple acción en las células neoplásicas: incrementando la proliferación celular, como angiogénico liberando mayores nutrientes y oxígeno a las células neoplásicas, y por ultimo, bloqueando la apoptosis.

Actualmente existe en estudios de investigación Fase I y Fase II un anticuerpo monoclonal que bloquea a este receptor y en teoría los pacientes pediátricos con un tumor cerebral tipo astrocitoma que exprese este marcador, podrían verse beneficiados con el uso de este anticuerpo monoclonal, por lo cual fue necesario realizar este estudio para conocer de que manera se expresa el marcador de superficie en nuestra población de niños mexicanos con astrocitomas, que dicho sea de paso, sólo pocos grupos en el mundo, han estudiado esta asociación. Por

ejemplo en la India, ²⁷ y otro mas en Nueva York que no es concluyente pero sin embargo no encontraron sobreexpresión de EGFR en su muestra de pacientes pediaticos con astrocitoma. ²⁸

Se ha observado sobreexpresión del EGFR en otros tumores sólidos como los tumores de cabeza y cuello con expresión de un 80 a 100%, próstata en un 40-80%, cáncer de mama variando entre 14-90%, carcinoma de colon de un 25-77%, tumores renales en un 50-90%, tumores de ovario 35-70%, primarios de esófago 35% y carcinoma de cuello uterino de un 50% a un 70%, por citar algunos. ²⁹

En un estudio realizado en la India con 33 casos de GBM en niños evaluaron la sobreexpresión de la proteína EGFR y la amplificación del gen EGFR, así como otros marcadores moleculares como p53, p16, p27 y la delección del gen PTEN. Encontraron sobreexpresión de la proteína de EGFR en un 23% y amplificación del gen de EGFR en un 5.5%. Concluyendo en los GBM pediátricos de novo la amplificación del EGFR, la delección del PTEN son raros y que a diferencia de los astrocitomas en adultos las alteraciones en p53 son mas frecuentes en los niños. ²⁸

Desde el punto de vista epidemiológico, nosotros no encontramos una diferencia significativa al compararlas con otros reportes en la literatura universal con respecto a la edad de presentación, grados histológicos y sobrevida de este grupo de pacientes.

No encontramos una diferencia significativa al comparar ambas curvas de sobrevida entre el subgrupo de pacientes que expresaron el EGFR con respecto al subgrupo de pacientes que no lo expresaron (50% vs 78%, $p=0.0635$)

Tampoco encontramos una asociación entre la localización y la expresión de este receptor, aunque debe mencionarse que de los 6 pacientes que expresaron EGFR, 5 estaban en el tallo cerebral, lo cual pudiera dar pie al pensar que lo niños con astrocitoma del tallo cerebral, lo cual pudieran verse beneficiados con el empleo de un anticuerpo monoclonal anti-EGFR como parte de su tratamiento de quimioterapia con miras a mejorar su sobrevida.

Por último, consideramos que deben realizarse estudios en los cuales se integren los diversos biomarcadores moleculares como protocolo en los niños con astrocitomas, con el objetivo de poder realizar un análisis estadístico mas completo con un mayor tamaño de muestra y con todas las variables con las que se pueda contar para de ésta forma poder afirmar de manera categórica una asociación entre un tipo específico de biomarcador molecular con la histología y sobrevida de los niños con astrocitoma.

Pareciera que los pacientes que expresan este marcador se encuentra la mayoría en tallo cerebral por lo cual es prudente pensar que estos pacientes se beneficiaran con el empleo de algún anticuerpo monoclonal.

El presente estudio debe continuarse con la finalidad de ampliar el tamaño de la muestra. Con los datos obtenidos no pareciera existir una correlación entre la expresión de EGFR con la sobrevida de los niños con astrocitomas, ni tampoco con la histología, de hecho el OR de 0.91 si bien no confiere efecto protector tampoco confiere mayor asociación con la muerte.

La aplicación en la clínica de la biología molecular con muestras representativas y estudios prospectivos de cohortes de pacientes va a permitir una estratificación biológica del comportamiento tumoral que puede apoyar una estratificación terapéutica adaptada al factor pronóstico y determinar también nuevas pautas terapéuticas que eviten tratamientos agresivos e innecesarios; a su vez el conocimiento de los distintos marcadores moleculares de los tumores del SNC, en especial de los astrocitomas, entidad mas común, permitirá en un futuro inmediato su utilización como dianas terapéuticas que actúen sobre las vías genéticas implicadas.

CONCLUSIONES

1. Pareciera que los pacientes que expresan este marcador se encuentra la mayoría en tallo cerebral por lo cual es prudente pensar que estos pacientes se beneficiaran con el empleo de algún anticuerpo monoclonal.
2. El presente estudio debe continuarse con la finalidad de ampliar el tamaño de la muestra. Con los datos obtenidos no pareciera existir una asociación entre la expresión de EGFR con la sobrevida de los niños con Astrocitoma, ni tampoco con la histología.
3. No existe asociación significativa entre la sobreexpresión de EGFR y el grado histológico, pareciera que la hay para la sobrevida, sin embargo la pequeña muestra de positividad crea un sesgo.

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Lanzkowsky P. Manual of pediatric hematology and oncology. EL SEVIER Academic Press, 4th edition 2005:512-529
- ² Mueller B, Gurney JG. Epidemiology of pediatric brain tumors. Neurosurg Clin N Am 1992; 3:715–21
- ³ Cohen K, Broniscer A, Glod John; Pediatric glial tumors: current treatment options in oncology. 2001, 2:529-536
- ⁴ Chang- Hyun L, Kyu-Won J et al. Epidemiology of Primary Brain and Central Nervous System Tumors in Korea: J Korean Neurosurg Soc 2010 48: 145-152
- ⁵ Broniscer A, Baker S, West A. Características clínicas y moleculares de la transformación maligna de los gliomas de bajo grado en los niños. J Clin Oncol 2007; 9 (3): 130-139
- ⁶ Bailey P, Cushing H. A classification of the tumors of the gliomas group on a histogenetic basis with correlated study of prognosis. Philadelphia: JP Lippincott, 1996
- ⁷ Ward S, Karakoula K, Phipps K. Cytogenetic analysis of paediatric astrocytoma using comparative genomic hybridisation and fluorescence in-situ hybridization. J Neurooncol (2010) 98:305–318
- ⁸ Vaishali S, Prasennjit D. Pediatric glioblastomas: A histopathological and molecular genetic study: Neuro- Oncology. 2009;11, 274-280
- ⁹ Nakamura M, Shimada K, Ishida E. Molecular pathogenesis of pediatric astrocytic tumors. Neuro-oncology 2007; 9: 113-123
- ¹⁰ Cohen K, Broniscer A, Glod John. Pediatric glial tumors: current treatment options in oncology. 2001; 2: 529-536
- ¹¹ Pollack I, Campbell J, Hamilton R. Proliferation Index as a predictor of prognosis in malignant gliomas of childhood. Cancer 1997; 79:849-56
- ¹² Vaishali S, Prasennjit D. Pediatric glioblastomas: A histopathological and molecular genetic study: Neuro- Oncology. 2009;11, 274-280
- ¹³ Pietsch T, Taylor M, Rutka J. Molecular pathogenesis of childhood brain tumors: Journal of Neuro-Oncology 2004; 70: 203–215.
- ¹⁴ VIII Congreso Virtual Hispanoamericano <http://conganat.cs.urjc.es> de Anatomía Patológica – Octubre de 2006 Conferencias Invitadas
- ¹⁵ Corey R, Frederick L et al. Analysis of oncogen and tumor suppressor gene alterations in pediatric malignant astrocytomas reveals reduced survival for patients with PTEN mutations: clinical cancer research 1999 (5): 4085-4090
- ¹⁶ Lopez E, Sepulveda A, Rioscovian A et al; sobrevida de los pacientes astrocitoma de alto grado que expresan el antígeno Ki67, atendidos en un hospital de pediatría: Gac Med Mex 2010 (146)(2): 118-123

-
- ¹⁷ Christian H, Rickert Æ, Werner Paulus. Prognosis-related histomorphological and immunohistochemical markers in central nervous system tumors of childhood and adolescence. *Acta Neuropathol* (2005) 109: 69–92.
- ¹⁸ Lopez E, Sepuveda A, Rioscovian A. sobre-expresion de Bcl-2 como factor pronostico de sobrevida en pacientes pediátricos con astrocitoma.
- ¹⁹ Furnari F, Fenton T et al. Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment: *Genes Dev.* 2007; 21: 2683-2710
- ²⁰ Lopez E, Sepuveda A, Mendoza L. Sobreexpresion de p53 y su asociación con la histología y sobrevida en pacientes con astrocitoma.
- ²¹ Molina F, Prujá E, Vera R. Prognostic factors in brain tumours. *ANALES Sis San Navarra* 2001; 24 (Supl. 1): 63-72.
- ²² Muñoz J, Fan X, Inda M. Molecular genetics of astrocitomas. *ANALES Sis San Navarra*
- ²³ Biegel A. Cytogenetics and molecular genetics of childhood brain tumors: *Neuro-Oncology* 1999; 1: 139-151
- ²⁴ Rickert C, Sträter R, et al. Pediatric high-grade astrocitomas show chromosomal imbalances distinct from adult cases. *Am J Pathol* 2001; 158: 1525-1532
- ²⁵ Noonberg SB, Benz CC. Tyrosine kinase inhibitors targeted to the epidermal growth factor receptor subfamily: role as anti-cancer agents. *Drugs* 2000; 59: 753-767.
- ²⁶ Salomon DS, Bradt R. Epidermal growth factor related peptides and their receptors in human malignances. *Critical Rev Oncol/ Hematol* 1995; 19: 183-232.
- ²⁷ Suri V, Das P. et al. Pediatric glioblastomas: A histopathological and molecular genetic study. *Neuro-Oncology* 2009; 11: 275-280.
- ²⁸ Sung T, Miller DC, et al. Preferential inactivation of the p53 tumor suppressor pathway and lack of EGFR amplification distinguish de novo high grade pediatric astrocytomas from the novo adult astrocytomas. *Brain Pathol* 2010; 10 (2): 249-259.
- ²⁹ De la Cruz J, et al. Receptor del factor de crecimiento epidérmico y cáncer: foco cáncer de pulmón. Tesis, Universidad Nacional de la Plata, México, 2007.

- 1 a 3 gotas 25°C por 30 a 60 minutos lavar/enjuagar
3. *Aplicar Match 1 Mouse Probe Dropper Bottle (amarillo)*
1 a 3 gotas 25°C por 15 minutos lavar/enjuagar
 4. *Aplicar Match 1 Universal HRP-Polymer Dropper Bottle (naranja)*
1 a 3 gotas 25°C por 30 minutos lavar/enjuagar
 5. *Retirar de la IQ Kinetic (estufa) y sobre el lavabo aplicar DAB (revelador)*
100 microlitros por laminilla (3 a 5 minutos) enjuagar con agua bidestilada y dejar caer en cloro (en un recipiente)
 6. *Cargar la rejilla con las laminillas y sumergirlas en hematoxilina por 5 minutos, enjuagar en agua corriente (como complemento de enjuague con agua amoniacal).*
 7. *Regresamos al tren con 10 lavados en*

<i>Agua bidestilada</i>	<i>10 lavados y escurrir</i>
<i>Alcohol al 50%</i>	<i>10 lavados y escurrir</i>
<i>Alcohol al 70%</i>	<i>10 lavados y escurrir</i>
<i>Xileno (recipiente 1)</i>	<i>10 lavados y escurrir</i>
<i>Xileno (recipiente 2)</i>	<i>10 lavados y escurrir</i>

MONTAJE

En cada laminilla se aplicara a la orilla una gota de Eco Mount para pegar el cubre objeto y dejar secar a la intemperie.

TABLA 1.

		N:40
SEXO (0.81:1)	Hombre Mujer	18 (45%) 22 (55%)
EDAD	< 5 años > 5 años	23 (57.5%) 17 (42.5%)
HISTOLOGIA	Pilocítico Fibrilar Anaplásica Glioblastoma Multiforme	12 (30%) 18 (45%) 8 (20%) 2 (5%)
LOCALIZACION	Tálamo Infratentoriales Supratentoriales Tallo Cerebral	1 (2.5%) 14 (35%) 15 (37.5%) 10 (25%)
ESTADO ACTUAL	Vivo Muerto BAJO GRADO ALTO GRADO	24 (60%) 16 (40%) 20 (66%) VIVOS 4 (40%) VIVOS

TABLA 2.

EGFR	POSITIVO NEGATIVO	6 (15%) 34 (85%)
LOCALIZACION	TALLO CEREBRAL CEREBELO	5 1
GRADO HISTOLOGICO	BAJO GRADO ALTO GRADO	3 3

Figura 1. Sobrevida Global en los pacientes pediátricos con astrocitoma.

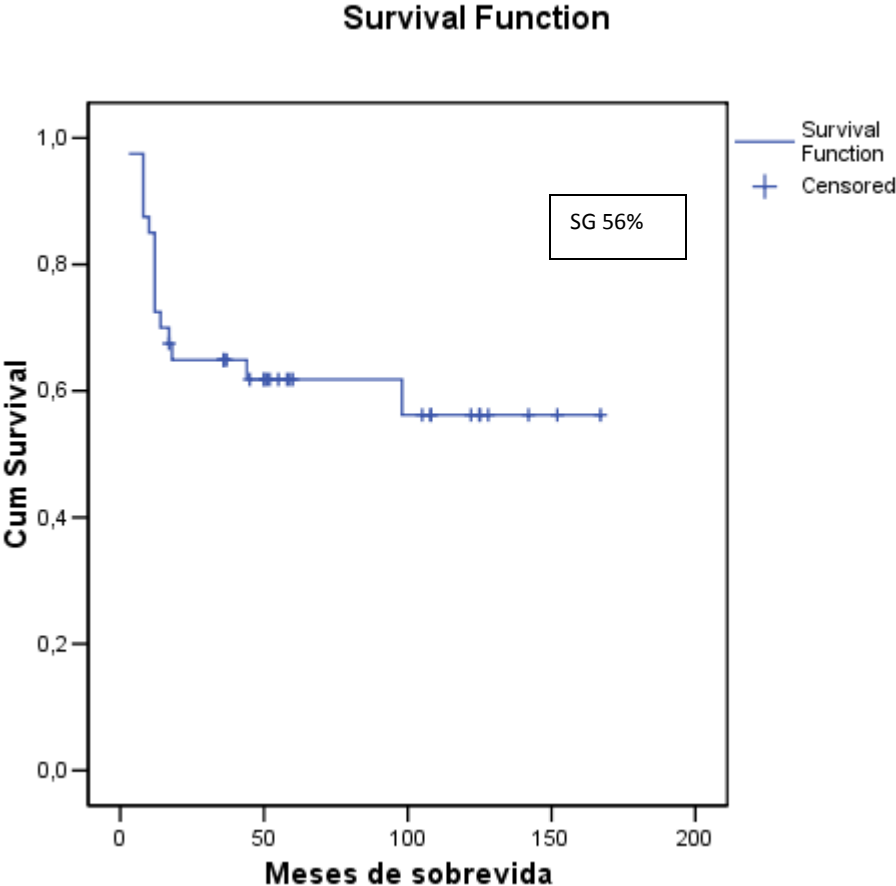


Figura 2. Sobrevida de acuerdo al sexo.

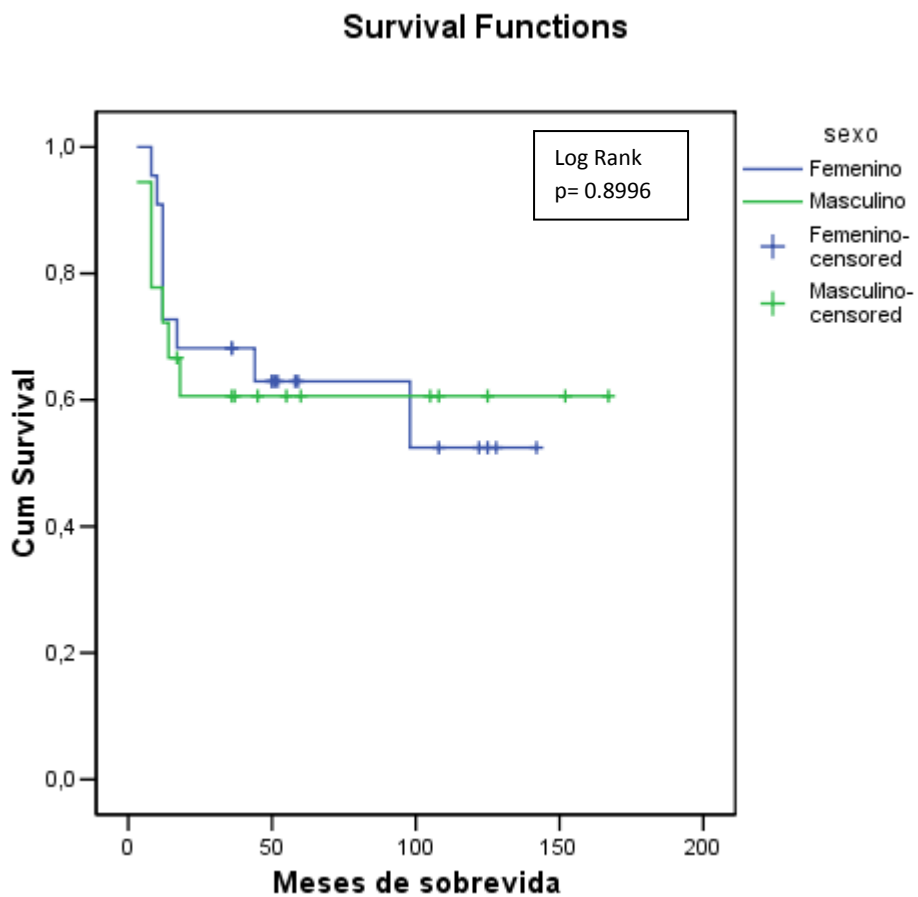


Figura 3. Sobrevida para los menores de 3 años de edad.

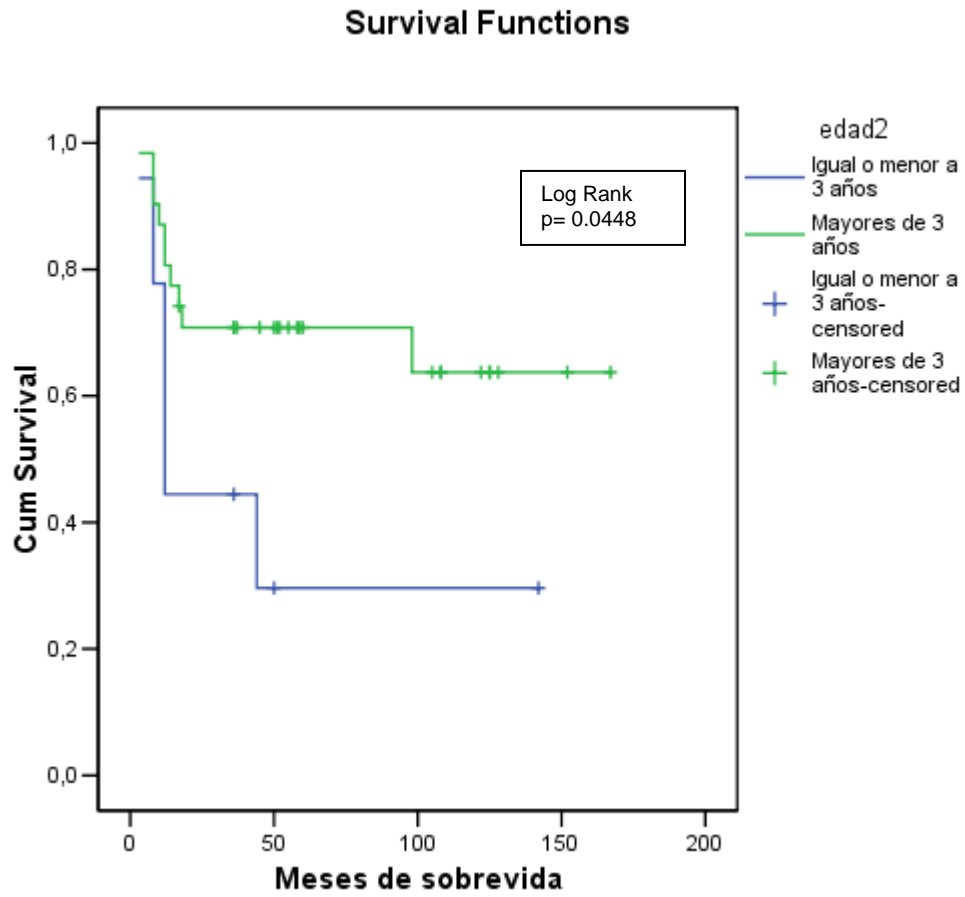


Figura 4. Sobrevida de acuerdo al grado histológico.

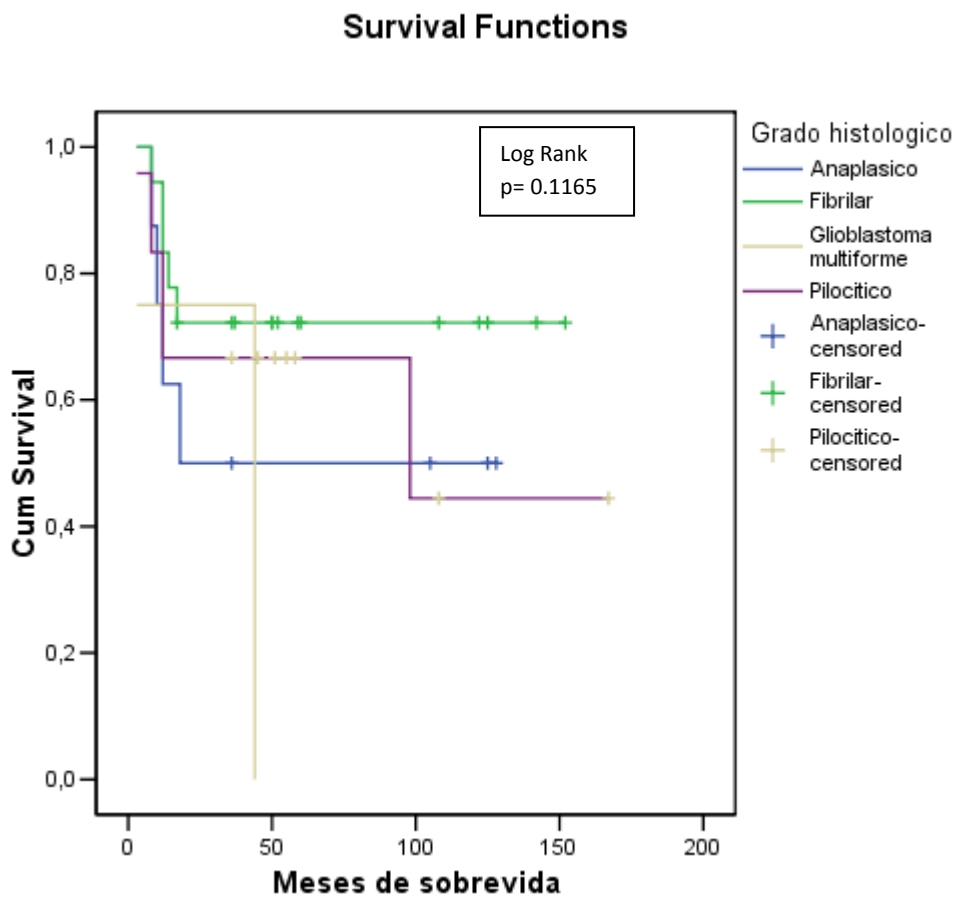


Figura 5. Sobrevida de acuerdo a la localización tumoral.

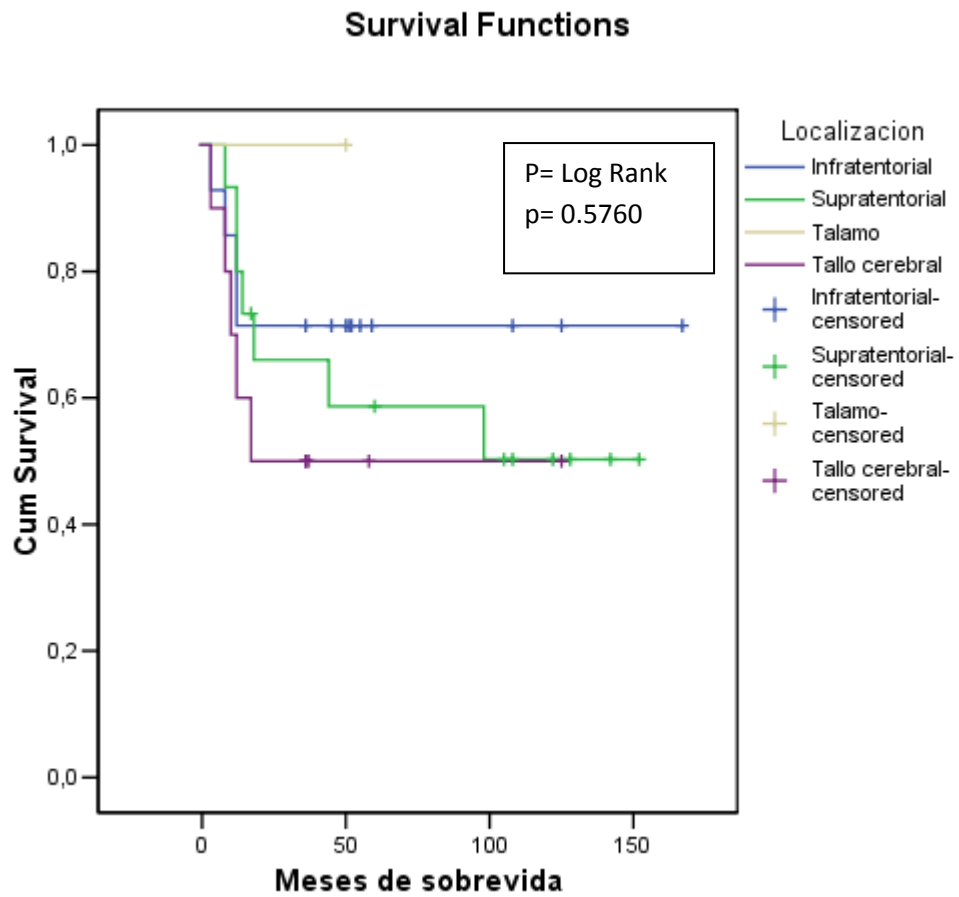


Figura 6. Sobrevida de acuerdo a la resección quirúrgica.

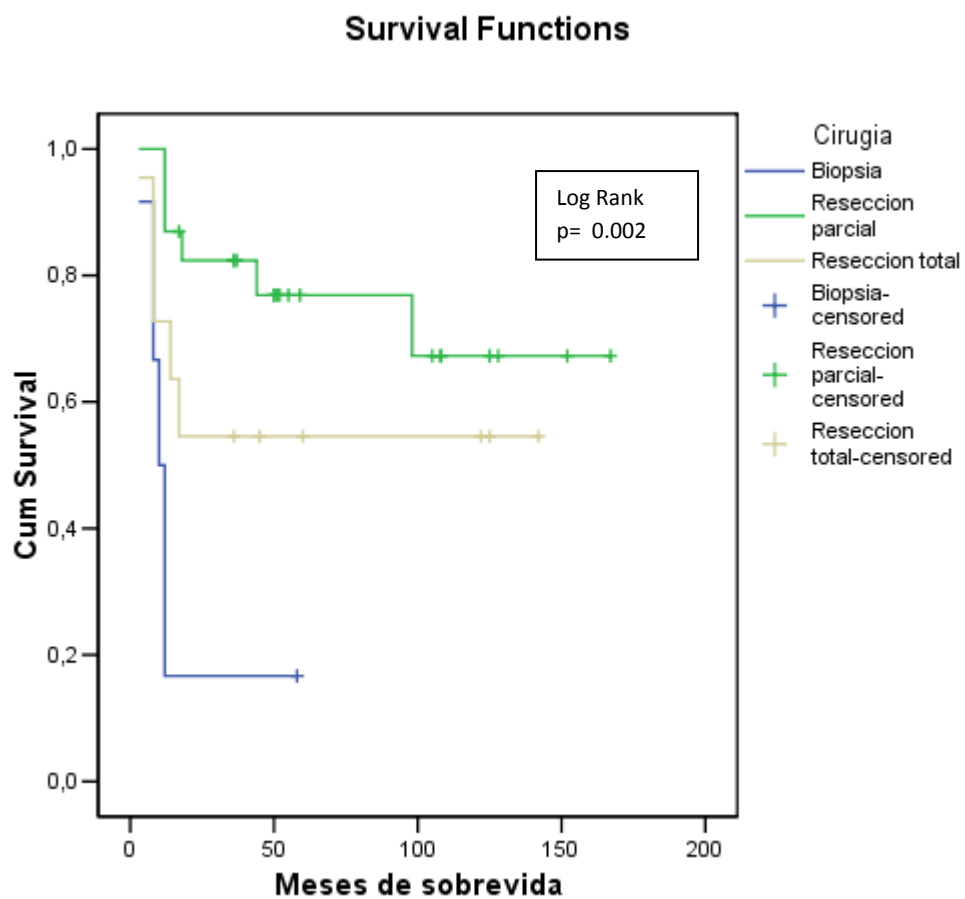


Figura 7. Sobrevida de acuerdo a la expresión de EGFR

