



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

PROGRAMA DE GRADUACION OPORTUNA PARA MEDICOS ESPECIALISTAS

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

“ASOCIACION DE SUBGRUPOS MOLECULARES DE MEDULOBLASTOMA CON SOBREVIVENCIA EN PACIENTES PEDIATRICOS CON MEDULOBLASTOMA ATENDIDOS EN EL HOSPITAL DE PEDIATRIA CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI”

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MEDICO ESPECIALISTA EN ONCOLOGIA PEDIATRICA

P R E S E N T A:

MARIA DE LOS ANGELES RUIZ PIÑA

TUTOR:

DR. ENRIQUE LOPEZ AGUILAR.

Jefe del Servicio de Oncología Pediátrica HP CMN SXXI

MEXICO, D.F. JULIO 2014



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.

SINODALES



Dr. Enrique López Aguilar.

Jefe del Servicio de Oncología Pediátrica. Presidente



Dra. Julia Rocío Herrera Marquez

División de Investigación. Secretario



Dra. Ana Paulina Rioscovian Soto

Profr. Adj de Oncología Pediátrica. Vocal



Dra. Yadira Betanzos Cabrera

Profr Adj de Oncología Pediátrica. Vocal



Dirección de Prestaciones Médicas
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud



Dictamen de Autorizado

Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3603
HOSPITAL DE PEDIATRÍA, CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, D.F. SUR

FECHA 12/03/2014

DR. JAVIER ENRIQUE LÓPEZ AGUILAR

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

"ASOCIACION DE SUBGRUPOS MOLECULARES DE MEDULOBLASTOMA CON SOBREVIDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON MEDULOBLASTOMA ATENDIDOS EN EL HOSPITAL DE PEDIATRÍA CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI"

que sometió a consideración de este Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de Ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2014-3603-8

ATENTAMENTE

DR. (A). HERMILO DE LA CRUZ YÁÑEZ

Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3603

IMSS
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

HOSPITAL DE PEDIATRÍA
C. M. N.

RECIBIDO
18 MAR 2014
Karlhe-1158

I. M. S. S.
ONCOLOGÍA PEDIÁTRICA

INDICE

RESUMEN.....	3
ANTECEDENTES.....	4
JUSTIFICACION.....	8
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	9
OBJETIVOS.....	10
HIPOTESIS.....	11
MATERIAL Y METODOS.....	12
DESCIPCION GENERAL DEL ESTUDIO.....	15
RESULTADOS.....	17
DISCUSION.....	24
CONCLUSIONES.....	28
BIBLIOGRAFIA.....	29
ANEXOS.....	33

ASOCIACIÓN DE SUBGRUPOS MOLECULARES DEL MEDULOBLASTOMA CON SOBREVIDA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON MEDULOBLASTOMA ATENDIDOS EN EL HOSPITAL DE PEDIATRÍA CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

Antecedentes. El meduloblastoma constituye un grupo de tumores cerebrales de amplia diversidad clínica y molecular. Representan un 20% de los tumores del SNC de la infancia y un 40% de los localizados en la fosa posterior; constituyendo así, el tumor cerebral primario más frecuente en la edad pediátrica. Roger Taylor, Jae Cho y Korshunov han observado que el meduloblastoma no es una enfermedad única sino que comprende una gran diversidad de subgrupos con diferentes características clínicas y moleculares. En base a esto, se ha llegado al acuerdo de la existencia de 4 subgrupos moleculares principales de meduloblastoma: Wingless (Wnt), Sonic Hedgehog (Shh), grupo 3: del MYC amplificado y grupo 4. Cada uno, distinto en términos de demografía, histología, índice de DNA, mutaciones, evolución clínica y supervivencia.

Objetivo. Determinar la asociación entre los subgrupos moleculares del meduloblastoma y la supervivencia de pacientes pediátricos con meduloblastoma atendidos en el Hospital de Pediatría CMN SXXI.

Pacientes, material y métodos. El estudio fue de tipo observacional, analítico, longitudinal, y ambilectivo. De acuerdo al diseño metodológico: de casos y controles anidados en una cohorte. Se llevó a cabo en el Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI dentro del período comprendido de enero 2010 - diciembre 2013. Se incluyeron a todos los pacientes menores de 17 años, de ambos sexos, con meduloblastoma, diagnosticados y tratados en este hospital, que contaran con bloque de parafina para su estudio. Se realizaron cuatro tinciones de inmunohistoquímica para cada bloque de parafina, utilizando los siguientes anticuerpos monoclonales para la identificación de los 4 subgrupos moleculares: beta catenina (subgrupo WNT), GAB1 (subgrupo Shh), NPR3 (subgrupo 3) y KCNA1 (subgrupo 4). El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando medidas de tendencia central y curvas de Kaplan Meier para medición de la supervivencia global a 5 años, así como prueba de Log Rank Test para determinar la significancia estadística de las mismas y prueba de chi cuadrada para asociación así como regresión logística para evaluar cada una de las variables como factor predisponente.

Resultados. Se incluyeron en el estudio 29 pacientes, 3 de los cuales fueron eliminados por no contar con bloque de parafina para su estudio. De los 26 pacientes, 70% correspondieron al sexo masculino (n=18) y 30% (n=8) al sexo femenino, con una razón hombre:mujer de 2.2:1. La media de edad fue de 7.5 años, con un valor mínimo de 8 meses y un máximo de 16 años. Respecto a la distribución por subgrupos moleculares se encontró que 11.53% (n=3) correspondía al subgrupo WNT, 38.46% (n=10) al subgrupo Shh, 11.53% (n=3) al MYC amplificado y 30.76% (n=8) al subgrupo 4. Dos pacientes se englobaron como no especificados dado que en ellos no se encontraron alteraciones características de algún subgrupo en particular. La supervivencia global a 5 años en general fue de 69.2%; y de acuerdo a cada subgrupo de la siguiente manera: subgrupo WNT supervivencia global de 100%, subgrupo Shh 50%, subgrupo MYC amplificado 66.7% y subgrupo 4 de 75%, lo anterior sin mostrar diferencias estadísticamente significativas (p=0.66).

Conclusiones. Los 4 subgrupos de meduloblastoma difieren en varios aspectos, que incluyen características genéticas, demográficas, clínicas y pronósticas. El subgrupo molecular junto con la edad, residual tumoral, histología y diseminación a neuroeje, representan los factores pronósticos más importantes para la estratificación de pacientes y determinación de la supervivencia.

ANTECEDENTES

Los tumores cerebrales constituyen el tumor sólido más frecuente en la edad pediátrica, siendo los segundos en frecuencia general después del grupo conformado por leucemias y linfomas en Estados Unidos, lo que representa el 25% del cáncer pediátrico.¹⁻⁴

En México los tumores del sistema nervioso central ocupan el tercer lugar de las neoplasias malignas en niños. Se estima que anualmente ocurren 17 casos por millón en menores de 15 años, lo que significa aproximadamente 560 nuevos casos por año.^{5,6}

Dentro de este grupo de tumores, el meduloblastoma ocupa el segundo lugar en frecuencia representando 20% de los tumores primarios del sistema nervioso central y 40% de los que se originan en cerebelo. La edad media de presentación de los meduloblastomas es de cinco a siete años. Estos tumores infiltran difusamente a través de las capas de la corteza cerebelosa por debajo de la pía, similar a los que ocurre normalmente en las etapas embrionarias. Se diseminan por la circulación del líquido cefalorraquídeo con siembras a lo largo del espacio subaracnoideo y alrededor de la médula espinal para eventualmente salirse del sistema nervioso central y diseminarse a hueso, hígado, médula ósea y otros sitios menos frecuentes.⁷

Con base en su morfología histológica, existe cinco tipos: meduloblastoma desmoplásico-nodular, meduloblastoma clásico, anaplásico o de células grandes y medulomioblastoma.⁸

El meduloblastoma clásico es un tumor altamente celular, friable, compuesto de células con núcleo intensamente basofílico, de tamaños y formas variables, con citoplasma relativamente escaso y con abundantes mitosis. La presencia de rosetas de Homer Wright y pseudorosetas pueden estar presentes. También se reportan grados variables de diferenciación glial y neuronal. Estos hallazgos son sugestivos de una neoplasia primitiva.^{9,10}

Tradicionalmente los factores asociados a mal pronóstico para los meduloblastomas son: edad al diagnóstico menor a tres años, diseminación a neuroeje, tamaño o volumen del tumor residual mayor a 1.5cm²; y por su histología variedad anaplásica. De acuerdo a ello, el North American Children's Oncology Group estableció dos grupos de riesgo: alto y estandar. El tipo de tratamiento se correlaciona con la determinación del grupo de riesgo del paciente. ¹¹

Gilberston ha estudiado algunos marcadores moleculares del meduloblastoma, que se correlacionan con el pronóstico y respuesta al tratamiento. Se ha asociado con un mal pronóstico la sobreexpresión de Ki-67/MIB-1, ERBB2, pérdida de la heterocigocidad de 17p, amplificación del MYCC, LDHB y CCNB.¹¹ A este respecto, estudios realizados en población pediátrica mexicana, específicamente de nuestro hospital por López y cols, han encontrado una baja incidencia de la sobreexpresión del ERBB2 en pacientes con meduloblastoma¹²⁻¹⁵

Con la mejoría en el conocimiento de la transcripción genómica, varios grupos de especialistas en estudios moleculares, como Roger Taylor en Toronto, Jae Cho en Boston y Korshunov en Alemania, han observado que el meduloblastoma no es una enfermedad única, sino que comprende una gran diversidad de subgrupos con diferentes características clínicas y moleculares, razón por la cual han comenzado a subclasificarlo sobre la base de diferencias encontradas a este respecto y, en el entendido que tumores con transcripción similar van a tener un comportamiento biológico parecido. ¹⁶⁻¹⁸

En base a lo publicado en la literatura y algunos trabajos presentados en la conferencia de Boston, Massachusetts, se ha llegado al acuerdo de la existencia de 4 subgrupos moleculares principales de meduloblastoma: Wingless (Wnt), Sonic Hedgehog (Shh), grupo 3: del MYC amplificado y grupo 4. Se cuenta con evidencia de que existen subtipos dentro de cada subgrupo, especialmente en el caso del grupo 3 y 4. ^{16,44}. Cada grupo es distinto en términos de demografía, histología, índice de DNA, mutaciones, evolución clínica y sobrevida¹⁸

El subgrupo mejor estudiado y el que mejor pronóstico confiere es el Wnt, que se presenta en igual proporción en hombres y mujeres, es más frecuente en lactantes y de localización en el vermix cerebeloso¹⁹⁻²¹. La supervivencia global para este grupo de pacientes excede el 90%, siendo la mayoría de los decesos debidos a complicaciones secundarias al tratamiento o por neoplasias secundarias más que recurrencia del meduloblastoma.²². Mutaciones en la línea germinal de la vía de señalización del Wnt inhiben el gen APC, predisponiendo al síndrome de Turcot, el cual confiere una predisposición a presentar meduloblastoma. También se han encontrado mutaciones somáticas del gen CTNNB1 que codifica para la b-catenina²³⁻²⁴

Ambas mutaciones desempeñan un papel importante en la vía de señalización wnt y la patogénesis de este subgrupo de meduloblastomas. La mayoría de estos corresponden a una histología clásica. Frecuentemente son descritas mutaciones CTNNB1, tinción nuclear para b-catenina, inmunohistoquímica positiva para DKK1 y monosomía 6 (delección de una copia del cromosoma 6 en el tumor), cualquiera de las cuales puede ser usada como estándar de oro para diagnóstico de meduloblastoma del subgrupo wnt.²⁵ También ha sido identificado dentro de este subgrupo la variedad histológica anaplásica, la cuál parece mantener excelente pronóstico si se encuentra asociada con wnt.²⁶

El subgrupo Sonic Hedgehog (Shh) de meduloblastomas es llamado así dado que es la vía de señalización que se encuentra implicada en su etiología. No existe predilección por algún sexo, presenta dos picos de incidencia: en niños de 0-3 años y a los 16 años y es localizado más frecuentemente en los hemisferios cerebelosos. Los individuos con mutaciones en la línea germinal del receptor de Sonic Hedgehog (PTCH) desarrollan el síndrome de Gorlin, que conlleva predisposición al meduloblastoma.^{27,28}. De igual forma se han identificado mutaciones somáticas de PTCH, SMO y SUFU así como amplificaciones de GLI1 y GLI2.^{29,30}. Otras alteraciones encontradas son inmunohistoquímica positiva para SFRP1 o GAB1, delección del cromosoma 9q, esto último relacionado con la localización del gen PTCH.³¹

En cuanto a la variante histológica, la mayoría de los meduloblastomas en este subgrupo son desmoplásicos. El pronóstico es similar al del grupo 4, es decir intermedio entre el Wnt (buen pronóstico) y el grupo 3 (peor pronóstico)^{32,33}

El subgrupo del MYC amplificado corresponde en su mayoría a meduloblastoma de histología clásica y LCA.³⁴ En la inmunohistoquímica son positivos para NPR3, presentan amplificación de MYC, sobreexpresión y amplificación del oncogen OTX2, ganancia del cromosoma 1p, pérdida de 5q y de 10q. Son más frecuentes en el sexo masculino, y en el grupo etario de lactantes y preescolares. Es común encontrar metástasis lo que le confiere un pronóstico desfavorable.³⁵

En este subgrupo se han encontrado subconjuntos de pacientes que presentan características diferentes entre sí, como por ejemplo, el grupo denominado 3a incluye pacientes con amplificaciones de MYC (mutación que se asocia con mayor riesgo de recurrencia y muerte); contrario a lo observado en los pacientes pertenecientes al grupo 3b, los cuales no muestran esta amplificación y tienen un pronóstico similar al los del subgrupo 4.³⁵

El subgrupo 4 es el prototipo de meduloblastoma: aquel observado en pacientes masculinos de 7 años de edad, con isocromosoma 17q, de histología clásica. No se tiene tan clara la patogénesis molecular, sin embargo se ha sugerido como marcador inmunohistoquímico KCNA1.³⁵

El isocromosoma 17q aunque suele encontrarse también en el subgrupo 3 (26%), es mucho más frecuente en estos pacientes (66%).^{18,35} Otra característica particular de este grupo es la pérdida del cromosoma X, que se detecta en 80% de las pacientes. Su proporción en cuanto al sexo es 2:1, a favor del sexo masculino y su pronóstico es intermedio, similar al observado en grupo Shh.³⁵

Con todo lo expuesto anteriormente se ha concluido en diversos estudios (Ellison, Daltoon, Kool, Koster y Taylor) que, pacientes con alteraciones genéticas vinculadas con mal pronóstico requieren de tratamientos más agresivos, mientras que aquellos con alteraciones genéticas asociadas a buen pronóstico podrían beneficiarse más con tratamientos menos agresivos que no ensombrezcan la sobrevida de los pacientes y, que por el contrario disminuyan los efectos tóxicos y comorbilidades asociadas al tratamiento.^{20,22,34,35}

JUSTIFICACION

El meduloblastoma representa el segundo tumor más frecuente dentro de las neoplasias del sistema nervioso central a nivel mundial y, estas neoplasias en conjunto la primera causa de mortalidad en pacientes pediátricos oncológicos.^{36,37}

Existen alteraciones genéticas dentro del grupo de meduloblastomas que han sido vinculadas con la edad de presentación, histología, pronóstico y sobrevida de los pacientes, y que constituyen por lo tanto blancos terapéuticos.¹⁶⁻¹⁸

Estas alteraciones genéticas conforman la clasificación de subgrupos moleculares del meduloblastoma, que ayuda a predecir la evolución y el pronóstico de los pacientes al momento del diagnóstico y que tiene la finalidad de ofrecer un tratamiento antineoplásico dirigido e individualizado³⁵ y, dado que hoy en día el objetivo en la oncología es ofrecer una medicina personalizada, el conocimiento de los subgrupos moleculares constituye un elemento más para la mejor estratificación de los pacientes atendidos en esta unidad.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En México, en los últimos 20 años, si bien se ha logrado un incremento en la supervivencia global a cinco años en pacientes con meduloblastoma de un 20% a 78%, existen alteraciones citogenéticas, vinculadas recientemente con el pronóstico de estos pacientes.^{12,43}

Estas alteraciones citogenéticas han llevado a la identificación de subgrupos moleculares del meduloblastomas que tiene como objetivo estructurar tratamientos más específicos e individualizados, y consecuentemente mejorar la supervivencia de estos pacientes.³⁵

Es por esto, la importancia de estudiar a la población pediátrica atendida en el Instituto Mexicano del Seguro Social, específicamente del Hospital de Pediatría CMN SXXI, que representa uno de los centros nacionales de referencia para pacientes pediátricos con tumores cerebrales, e investigar si en ellos, de igual forma que lo publicado en otros países, existe una asociación entre dichos subgrupos moleculares de meduloblastoma y la supervivencia, para en un futuro poder ofrecer tratamientos más específicos y personalizados.

Surge entonces la siguiente pregunta de investigación:

Existe asociación entre los subgrupos moleculares del meduloblastoma y la supervivencia de pacientes pediátricos con meduloblastoma atendidos en el Hospital de Pediatría CMN SXXI?"

OBJETIVOS

Objetivo General

1. Determinar la asociación entre los subgrupos moleculares del meduloblastoma y la sobrevida global en general de pacientes pediátricos con meduloblastoma atendidos en el Hospital de Pediatría CMN SXXI.

Objetivos Secundarios

1. Establecer la asociación entre la sobrevida global y el subgrupo molecular WNT.
2. Establecer la asociación entre la sobrevida global y el subgrupo molecular Shh.
3. Establecer la asociación entre la sobrevida global y el subgrupo molecular 3.
4. Establecer la asociación entre la sobrevida global y el subgrupo molecular 4.

HIPOTESIS DE TRABAJO

H1. Los pacientes del subgrupo WNT tienen sobrevida global mayor al 90%

H2. Los pacientes con meduloblastoma del subgrupo MYC amplificado tienen una sobrevida global menor de 50%

H3. Los pacientes con meduloblastoma del subgrupo Shh y 4 presentan una sobrevida global entre el 50-90%

PACIENTES MATERIALES Y METODOS

LUGAR

Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI en el servicio de oncología.

Los pacientes fueron captados, en el periodo comprendido de enero 2010 al mes de diciembre 2013. Estos pacientes representan a la población de pacientes con meduloblastoma que se atienden en esta unidad.

TIPO DE ESTUDIO

Por tipo de maniobra: Observacional.

Por número de mediciones: Longitudinal.

Por número de grupos: Analítico.

Por forma de recolección: Ambilectivo.

Diseño metodológico: Casos y controles anidados en una cohorte

TAMAÑO DE MUESTRA

Por conveniencia. Se incluyeron todos aquellos que en el periodo descrito cumplieron con los criterios de inclusión.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

CRITERIOS DE INCLUSION

1. Pacientes menores de 17 años de edad con diagnóstico de meduloblastoma
2. Cualquier sexo
3. Diagnosticados y tratados en este hospital de enero 2010 a diciembre 2013, que contaran con bloque de parafina obtenido de la resección tumoral inicial diagnóstica.

CRITERIOS DE ELIMINACION

1. Pacientes que no aceptaron entrar al protocolo
2. Pacientes con expediente clínico incompleto
3. Pacientes que no contaron con bloque de parafina para el estudio.

VARIABLES

VARIABLE	TIPO	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	ESCALA DE MEDICION	UNIDAD DE MEDICION
Edad	Independiente	Tiempo de vida	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento del estudio	Cuantitativa continua	Años
Histología	Independiente	Características microscópicas de un tejido	Hallazgos microscópicos obtenidos del tejido tumoral diagnóstico	Cualitativa nominal	Desmoplásico Clásico Células grandes
Sexo	Independiente	Características biológicas que definen a un sujeto como femenino o masculino	Características fenotípicas del paciente que lo caracterizan como femenino o masculino	Cualitativa nominal	Masculino Femenino
Metástasis	Independiente	Proceso de propagación de un foco canceroso a un órgano distinto de aquel en que se inició.	Proceso de propagación de un foco canceroso a un órgano distinto de aquel en que se inició.	Cualitativa nominal	Con metástasis Sin metástasis
Sobrevida	Dependiente	Tiempo de vida de una persona después del diagnóstico de una enfermedad específica	Tiempo de vida transcurrido a partir del diagnóstico de meduloblastoma	Cuantitativa continua	Meses
Subgrupos moleculares	Independiente	Conjunto de meduloblastomas que tiene en común características citogenéticas y moleculares que les confieren una evolución y pronóstico específico	Conjunto de meduloblastomas que tiene en común características citogenéticas y moleculares que les confieren una evolución y pronóstico específico	Cualitativa Nominal	Subgrupo WNT (Beta catenina) Subgrupo Shh (GAB1) Subgrupo MYC amplificado (NPR3) Subgrupo 4 (KCNA1)
Tumor residual	Independiente	Tejido tumoral que persiste posterior al tratamiento quirúrgico	Tejido tumoral que persiste en estudios de imagen posterior a tratamiento quirúrgico	Cuantitativa ordinal	< 1.5cm ² >1.5cm ²
Esquema de Quimioterapia	Independiente	Conjunto de fármacos antineoplásicos utilizados en combinación para tratamiento del cáncer	Conjunto de fármacos antineoplásicos utilizados en combinación para el meduloblastoma	Cualitativa nominal	Esquema ICE
Dosis de Radioterapia	Independiente	Cantidad de radiación otorgada al paciente en el tratamiento del cáncer	Cantidad de radiación otorgada al paciente como parte del tratamiento para el meduloblastoma	Cuantitativa continua	55.8 Gy
Estado actual	Independiente	Condición del paciente al finalizar el estudio	Condición del paciente al finalizar es estudio	Cualitativa nominal	Muerto Vivo

DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO

1. Se captaron los pacientes que cumplieran con los criterios de selección a través del sistema electrónico y las libretas de consulta externa.
2. Se tomaron los siguientes datos de cada paciente: nombre, edad, sexo, histología del meduloblastoma, estado de diseminación al diagnóstico, tamaño del tumor residual, fecha de diagnóstico, fecha de inicio de tratamiento, dosis de radioterapia, esquema de quimioterapia, fecha de última cita y estado actual.
3. En el laboratorio de oncología se realizó el estudio de inmunohistoquímica con la finalidad de identificar los 4 subgrupos de meduloblastoma. Por cada bloque de parafina se obtuvieron 4 laminillas para realización de las tinciones con los anticuerpos monoclonales específicos: beta catenina para identificación del subgrupo WNT, GAB1 para el subgrupo Shh, NPR3 para subgrupo 3 y KCNA1 para el subgrupo 4. Cada tinción fue evaluada y clasificada de acuerdo a su intensidad (una, dos o tres cruces) y de acuerdo a su extensión en el tejido tumoral (10-100%) por un neuropatólogo cegado a la investigación. La tinción de inmunohistoquímica se muestra en el anexo 2 y los subgrupos de meduloblastoma de acuerdo a la técnica de inmunohistoquímica en el anexo 3.
4. Análisis de los datos mediante programa SPSS versión 15

ANALISIS ESTADISTICO

De acuerdo a la normalidad de la población se utilizó estadística paramétrica y no paramétrica

Para medición de la sobrevida global a 5 años se realizaron curvas de Kaplan Meier y para determinar su significancia estadística la prueba de log Rank Test. Se utilizó chi cuadrada para asociación de las variables de libre distribución dicotómicas y regresión logística para evaluar cada variable de forma independiente como factor predictor del estado actual de los pacientes.

FACTIBILIDAD

RECURSOS HUMANOS: Tutores, colabores, tesista, neuropatólogo pediátra, técnico en citogenética, técnico patólogo.

RECURSOS MATERIALES: Bloques de parafina, laminillas, anticuerpos monoclonales.

ASPECTOS ETICOS

Este estudio cumplió con los principios éticos de investigación de justicia, beneficencia y autonomía. Se considera este estudio con riesgo mínimo de acuerdo a lo establecido por la Ley General de Salud, Título segundo "De los aspectos éticos de investigación en seres humanos", capítulo uno, artículo 17 y 21 por lo que se elaboró un consentimiento informado. (Anexo 4)

Se sometió al comité de ética local siendo aprobado con número de registro R-2014-3603-8.

RESULTADOS

Se incluyeron en el estudio 29 pacientes pediátricos con diagnóstico de meduloblastoma tratados en el Hospital de Pediatría CMN SXXI en el período comprendido de enero 2010 a diciembre 2013. Se eliminaron 3 pacientes por no contar con bloques de parafina para su estudio.

De los 26 pacientes 70% correspondieron al sexo masculino (n=18) y 30% (n=8) al sexo femenino, con una razón hombre:mujer de 2.2:1. La mediana de edad fue de 8.5 años, con un valor mínimo de 8 meses y un máximo de 16 años. (Tabla 1-5).

Respecto a la histología reportada, el 61.53% (n=16) correspondió a meduloblastoma clásico, 19.23% (n=5) desmoplásico, 11.53% (n=3) a células grandes y 7.69% (n=2) no se reportaron con un patrón histológico característico. (Tabla 1-5)

De acuerdo a la diseminación a neuroeje 53.84% (n=14) del total de pacientes se estadifico como M0 (sin metástasis) al diagnóstico, mientras que el 46.15% (n=12) restante presentó diseminación a neuroeje (Tabla 1-5). Es importante mencionar que de esos 12 pacientes un 41% (n=5) correspondió al subgrupo Shh, 25% (n=3) al grupo 4, 16% (n=2) al WNT y 8% (n=1) al grupo 3. Un paciente más con diseminación a neuroeje pertenecía al subgrupo molecular no identificado.

Del total de pacientes y de acuerdo a su distribución por subgrupos moleculares se encontró que 11.53%(n=3) correspondía al subgrupo WNT, 38.46% (n=10) al subgrupo Shh, 11.53% (n=3) al MYC amplificado y 30.76% (n=8) al subgrupo 4. Dos pacientes se englobaron como no especificados dado que en ellos no se encontraron alteraciones características de algún subgrupo en particular. (Tabla 1-5).

En lo concerniente al tratamiento, a todos los pacientes se les realizó resección parcial de la tumoración, siendo el residual tumoral mayor a 1.5cm³. De igual forma el 100% de los pacientes recibió quimioterapia con esquema ICE de manera mensual (ifosfamida calculada a 2gr/m² IV por 3 dosis, una cada 24 horas, día 1,2 y 3; carboplatino calculado a 400mg/m² IV dosis única día uno y etopósido calculado a 100mg/m² IV tres dosis una cada 24 horas, día 1,2 y 3). La radioterapia a cráneo y neuroeje a dosis total de 55.8Gy fue parte del tratamiento en 92.30% (n=24) de los pacientes. Dos no recibieron esta modalidad terapéutica debido a la edad (8 meses) en un caso y a deceso previo a la radioterapia en el otro caso. (Tabla 1).

La sobrevida global en general fue de 69.2% a 5 años. Se documento recurrencia en 6 pacientes (23%) a lecho tumoral y sitios metastásicos (5 de los cuales fallecieron), y progresión en 2 paciente (3.8%), ambos fallecieron. (Tabla 1, Gráfica 1)

La sobrevida global a 5 años de acuerdo a cada subgrupo de meduloblastoma se reportó de la siguiente manera: subgrupo WNT sobrevida global de 100%, subgrupo Shh 50%, subgrupo MYC amplificado 66.7% y subgrupo 4 de 75%. La diferencia observada entre los subgrupos no mostró significancia estadística (p=0.66) (Gráfica 2)

Respecto a la sobrevida de acuerdo a los factores pronósticos tradicionalmente utilizados, el análisis arrojó lo siguiente: de acuerdo a la edad, los pacientes fueron agrupados en menores y mayores de 3 años. En el primer grupo la sobrevida global a 5 años fue de 66.7%, mientras que para los mayores de 3 años fue del 70%, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa ($p=0.83$) (Gráfica 3).

De acuerdo a la histología se observó mejor sobrevida para la variedad desmoplásica (SG 80%), seguido de la histología clásica y de células grandes con sobrevidas de 75%, y 33% respectivamente, sin encontrar diferencia estadísticamente significativa ($p=0.503$) (Gráfica 4).

Finalmente en base a la diseminación a neuroeje al diagnóstico, aquellos pacientes sin metástasis presentaron sobrevida global del 78.6%, mientras que aquellos con metástasis presentaron una sobrevida global a 5 años de 58.3% ($p=0.23$) (Gráfica 5).

El análisis de asociación entre el estado actual y los subgrupos moleculares, metástasis, la edad, o la histología mediante la prueba de chi cuadrada resultó no significativa estadísticamente. (Tabla 6)

De igual forma se utilizó el modelo de regresión logística para predecir la probabilidad de muerte en base a la histología, metástasis, edad y subgrupo molecular con un valor significativo < 0.05 sin encontrar para alguna de las variables significancia pronóstica. (Tabla 7)

Hasta diciembre de 2013, 18 pacientes se encontraban vivos y 8 habían fallecido, cinco de ellos debido a recurrencia, dos secundario a progresión tumoral y uno más debido a choque séptico.

TABLA 1. Características Generales de los pacientes

Pte	Edad (años)	Sexo	Mets	Inmunoh	Subgpo	Histología	RT	Residual	Estatus	SG (meses)	Progresión	Recurrencia
1	16	M	M0	GAB1	Shh	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	48	No	-
2	2	M	M1	B- catenina	WNT	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	50	No	-
3	11	F	M0	KCNA1	Gpo 4	Clásico	No	>1.5cm ³	Muerto	4	SI	-
4	5	F	M0	KCNA1	Gpo 4	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	36	No	-
5	2	M	M1	GAB1	Shh	Clásico	Si	>1.5cm ³	Muerto	7	NO	LT y Mets
6	9	M	M1	KCNA1	Gpo 4	Clásico	Si	>1.5cm ³	Muerto	20	NO	LT y Mets
7	13	M	M0	KCNA1	Gpo 4	NE	Si	>1.5cm ³	Vivo	36	No	-
8	2	M	M0	----	NE	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	5	No	-
9	11	F	M0	B-catenina	WNT	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	33	No	-
10	6	M	M0	GAB1	Shh	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	36	No	-
11	10	F	M1	GAB1	Shh	LCA	Si	>1.5cm ³	Muerto	11	NO	Lecho tum
12	12	F	M1	GAB1	Shh	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	36	No	-
13	4	M	M1	----	NE	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	36	No	-
14	10	M	M0	KCNA1	Gpo 4	Desmopl	Si	>1.5cm ³	Vivo	28	No	LH y Mets
15	9	F	M1	GAB1	Shh	NE	Si	>1.5cm ³	Muerto	10	NO	LH y Mets
16	3	M	M1	NPR3	Gpo 3	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	24	No	-
17	2	M	M0	GAB1	Shh	Desmopl	Si	>1.5cm ³	Muerto	22	SI	-
18	9	M	M1	GAB1	Shh	Clásico	Si	>1.5cm ³	Muerto	8	NO	LH y Mets
19	4	M	M0	NPR3	Gpo 3	LCA	Si	>1.5cm ³	Vivo	24	No	-
20	0.8	F	M0	GAB1	Shh	Desmopl	No	>1.5cm ³	Vivo	24	No	-
21	6	F	M0	NPR3	Gpo 3	LCA	Si	>1.5cm ³	Muerto	8	No	-
22	10	M	M1	KCNA1	Gpo 4	Desmopl	Si	>1.5cm ³	Vivo	22	No	-
23	13	M	M0	KCNA1	Gpo 4	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	16	No	-
24	12	M	M0	GAB1	Shh	Desmopl	Si	>1.5cm ³	Vivo	60	No	-
25	8	M	M1	B-catenina	WNT	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	6	No	-
26	6	M	M1	KCNA1	Gpo 4	Clásico	Si	>1.5cm ³	Vivo	8	No	-

M: masculino, F: femenino, M0: sin diseminación a neuroeje. M1: con diseminación a neuroeje. WNT: Subgrupo 1, Shh: subgrupo 2. Desmopl: desmoplásico. LCA: de células grandes, LH: lecho tumoral, Mets: metástasis fuera de lecho tumoral.

Tabla 2: Características de los pacientes del Subgrupo WNT

Edad	Menor de 3 años	Mayor a 3 años
	33% (n=1)	66% (n=2)
Diseminación	Si	No
	66% (n=2)	33% (n=1)
Histología	LCA/Anaplásico	Clásico
	0% (n=0)	100% (n=3)
Residual Tumoral	Mayor s 1.5cm3	Menor a 1.5cm3
	0% (n=0)	100% (n=3)

LCA: de células grandes.

Tabla 3: Características generales de pacientes del Subgrupo Shh

Edad	Menor de 3 años	Mayor a 3 años
	30% (n=3)	70% (n=7)
Diseminación	Si	No
	50% (n=5)	50% (n=5)
Histología	LCA/Anaplásico	Desmoplásico
	10% (n=1)	30% (n=3)
Residual Tumoral	Mayor s 1.5cm3	Menor a 1.5cm3
	0% (n=0)	100% (n=10)

LCA: de células grandes.

Tabla 4: Características generales de pacientes del subgrupo 3

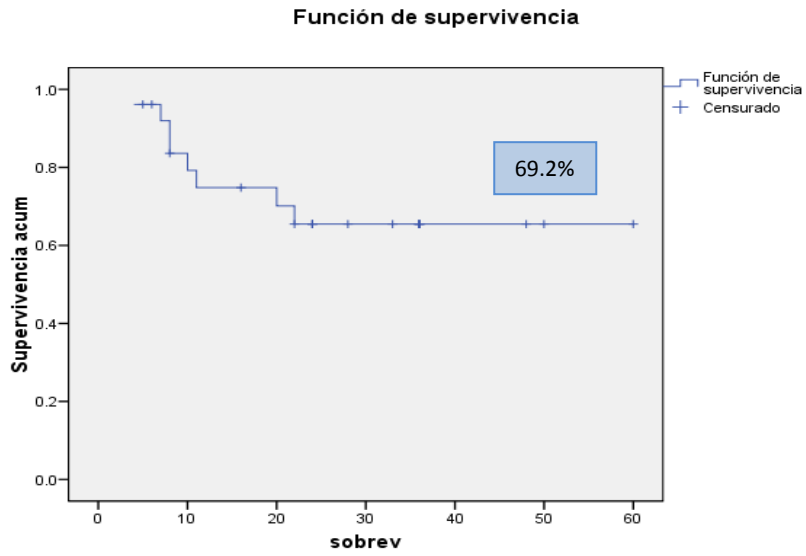
Edad	Menor de 3 años	Mayor a 3 años
	0% (n=0)	100% (n=3)
Diseminación	Si 33% (n=1)	No 66% (n=2)
Histología	LCA/Anaplásico 66% (n=2)	Clásico 33% (n=1)
Residual Tumoral	Mayor s 1.5cm3 0% (n=0)	Menor a 1.5cm3 100% (n=3)

Tabla 5: características generales de pacientes del subgrupo 4

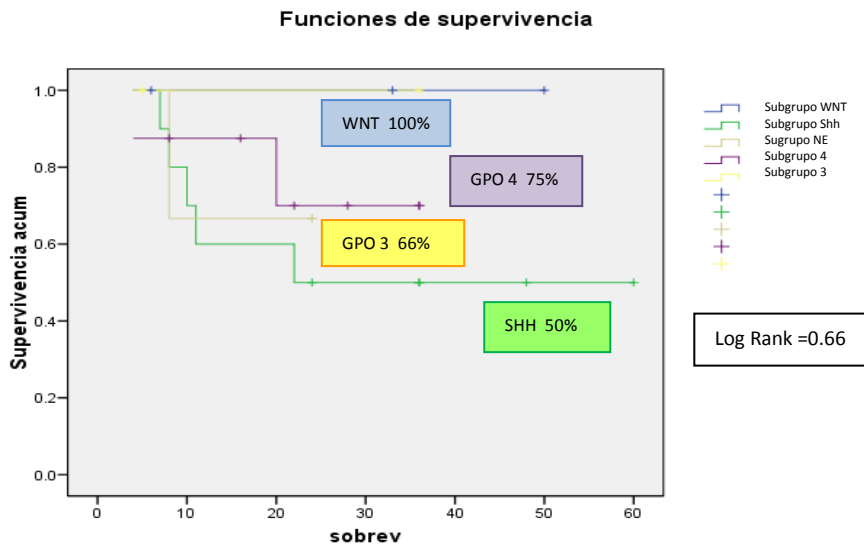
Edad	Menor de 3 años	Mayor a 3 años
	0% (n=0)	100% (n=8)
Diseminación	Si 37% (n=3)	No 63% (n=5)
Histología	LCA/Anaplásico 0% (n=0)	Clásico 63% (n=5)
Residual Tumoral	Mayor s 1.5cm3 0% (n=0)	Menor a 1.5cm3 100% (n=8)

LCA: de células grandes.

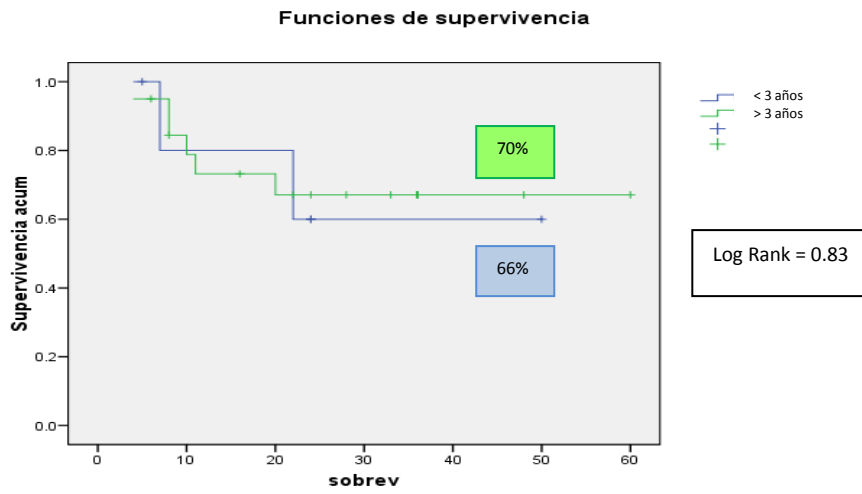
Gráfica 1: Sobrevida Global a 5 años



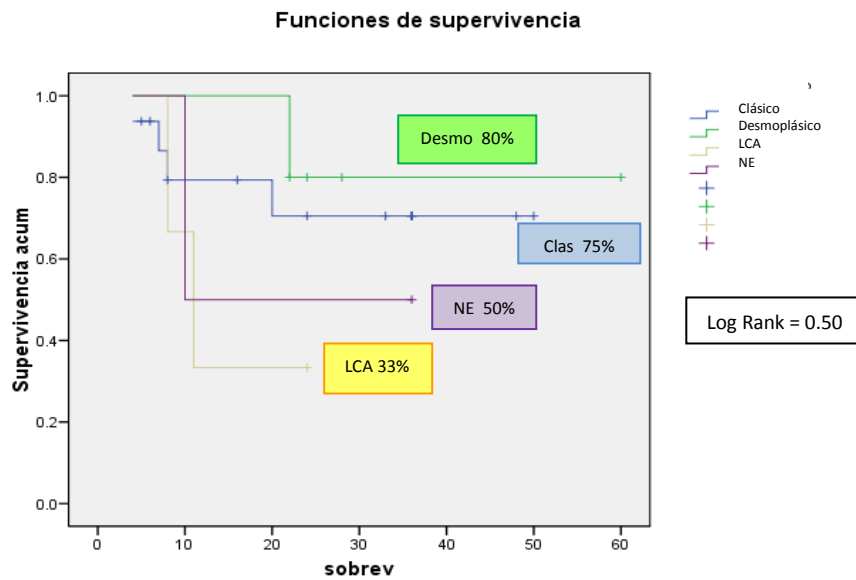
Gráfica 2: Sobrevida global por subgrupos moleculares



Grafica 3: Sobrevida global de acuerdo a la edad



Gráfica 4: Sobrevida Global de acuerdo a la histología



Gráfica 5. Sobrevida Global de acuerdo a la diseminación a neuroeje.

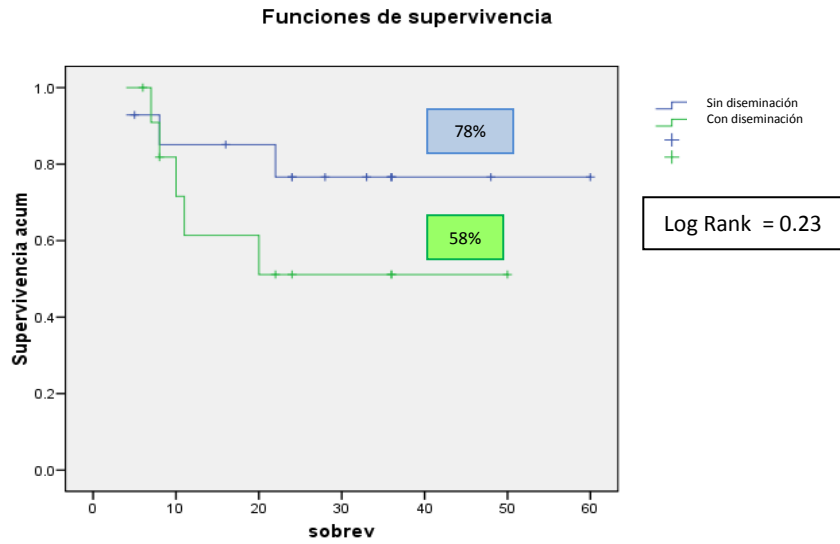


Tabla 2. Valor de p en la prueba de chi cuadrada utilizada para asociar el estado actual y el subgrupo molecular, las metástasis, edad e histología.

Variables	p
Subgrupo	0.394
Metástasis	0.391
Edad	0.877
Histología	0.443

Tabla 3. Modelo de Regresión Logística realizado para predecir la probabilidad de muerte basado en variables clínicas e histopatológicas

Variables	p
Subgrupo	0.678
Metástasis	0.258
Edad	0.801
Histología	0.187

DISCUSION

El meduloblastoma constituye un grupo de tumores cerebrales de amplia diversidad clínica y molecular. ³⁸ Representan un 20% de los tumores del SNC de la infancia y un 40% de los localizados en la fosa posterior ³⁹; constituyendo así, el tumor cerebral primario más frecuente en la edad pediátrica. ^{38,39}

A pesar de que los avances en el tratamiento en las últimas tres décadas han resultado en la curación de un 75% de los pacientes categorizados como de riesgo estándar, esta mejoría ha implicado también efectos secundarios significativos en los sobrevivientes. Por otro lado, los pacientes de alto riesgo con evidencia de tumor metastásico o enfermedad residual significativa presentan un considerable desafío terapéutico y, en general, tienen un pronóstico desalentador. Los datos recientes sobre las propiedades biológicas diferentes entre los subgrupos moleculares podrían proporcionar una mejor estratificación de los pacientes de acuerdo al riesgo, permitiendo así ejercer una medicina personalizada. ⁴⁰⁻⁴²

En 2010 Ellison, Gilberston y Taylor inician la caracterización del subgrupo WNT, Shh y no WNT/Shh mediante inmunohistoquímica combinando los anticuerpos para beta catenina, GAB1, filamina A, y YAP1. El primero de ellos útil en la identificación de meduloblastomas del subgrupo WNT, GAB1 con inmunoreactividad en el caso de subgrupo Shh; y filamina A y YAP1 positiva para ambos subgrupos. Por otra parte, en cuanto al perfil genético estos mismos autores concluyeron que la monosomía del cromosoma 6 se asociaba fuertemente a tumores WNT, mientras que la pérdida del PTCH1 ocurría de forma casi exclusiva en tumores Shh. La amplificación de MYC y desbalances del cromosoma 17 se observaron de forma predominante en tumores no Shh/WNT.²⁰

Estudios posteriores en el 2012 realizados por Northcott y cols a través del grupo MAGIC llevan a cabo una caracterización genética de cada uno de los subgrupos mediante mapeo genético de 1200 meduloblastomas, siendo importante destacar la mejor caracterización del subgrupo 4 en este trabajo, poco estudiado hasta entonces. Estos autores señalan, que la aberración somática más frecuente en este subgrupo es la ganancia de la región 5q23 que codifica al gen SNCAIP (proteína sinucleína alfa) resultando esto en la duplicación de SCAIP.

En la misma fecha Kool, Remke, Northcott, Taylor y finalmente el consenso realizado en Boston Massachusetts completan la caracterización y el perfil molecular de cada uno de los cuatro subgrupos conocidos hasta ahora, sugiriendo para el subgrupo 3 la inmunohistoquímica positiva para NPR3 y para el subgrupo 4 la inmunoreactividad a KCNA1, y puntualizando por otro lado, que la sobrevida global a 5 años para aquellos pacientes del subgrupo WNT es del 95%, mientras que la peor sobrevida es la reflejada por el subgrupo 3 del 58% a 5 años ($p=0.003$)^{16,18}.

Por nuestra parte, en el presente estudio la sobrevida a 5 años para el grupo WNT fue del 100% y para el subgrupo 3 del 66%, (mayor a la reportada en la literatura), siendo más baja aún la reflejada por el subgrupo Shh del 50% ($p=0.66$). Es importante destacar que probablemente esta disminución en la sobrevida del subgrupo Shh se debió en parte a que la diseminación a neuroeje estuvo presente al diagnóstico en el 50% de nuestros pacientes; mientras que en la cohorte pediátrica reportada por Kool únicamente el 22% presentó metástasis.

En relación a la sobrevida de acuerdo a la histología encontrada en nuestro estudio tenemos que; aquellos pacientes con meduloblastoma desmoplásico ($n=5$) presentaron una sobrevida global a 5 años del 80%, seguida de la clásica ($n=16$) con 75% y finalmente la histología de células grandes ($n=3$), con una sobrevida del 33% a 5 años. Lo anterior es similar a lo reportado en la literatura más no con lo reportado por Kool, quien encuentra para la histología clásica una sobrevida del 80% a 5 años, y del 76% y 60% para la histología desmoplásica y de células grandes respectivamente¹⁸.

Tal como se reporta en la literatura internacional,¹⁶ la totalidad de los pacientes WNT correspondieron a histología clásica, una mayoría (66%) del subgrupo 3 a histología de células grandes e histología clásica en un menor porcentaje (33%), y el subgrupo 4 a meduloblastoma clásico en un 68%.

Para el subgrupo Shh, contrario a lo reportado en el consenso internacional, la histología predominante en nuestros pacientes fue la clásica y no la desmoplásica, lo que probablemente pudo haber contribuido también a la baja sobrevida global presentada en este grupo de pacientes, ya que es bien sabido que, *per se*, la histología desmoplásica constituye un factor de buen pronóstico.

Respecto a la asociación de metástasis y sobrevida, como era esperado, y concordante a la literatura, esta fue menor en pacientes con diseminación a neuroeje (78% vs 58%), sin encontrar sin embargo significancia estadística ($p=0.23$)

Tal como ha sido evidenciado desde el 2007 en el estudio realizado por López y cols, la diseminación a neuroeje constituye uno de los factores más importantes en el pronóstico de los pacientes con meduloblastoma, encontrando dicho factor como predictor de mortalidad (OR 17.6, $p=0.05$).⁴⁵

La frecuencia de presentación de metástasis de acuerdo a los subgrupos de meduloblastoma, difirió en comparación a la reportada en los trabajos de Kool y Taylor, quienes encuentran mayor frecuencia de diseminación para el subgrupo 4 y 3 siendo esta del 31 y 30% respectivamente, ^{16,18} mientras que, en nuestro estudio un 66% de los pacientes del WNT presentaron metástasis, seguida del subgrupo 4 con 60%, y Shh y subgrupo 3 con 50% y 30% respectivamente, observándose claramente que la diseminación es mucho más frecuente en nuestros pacientes que la reportada en otros estudios independientemente del subgrupo al que pertenezcan.¹⁸

Otro de los estudios que apoyan dichas observaciones es realizado por Gilbertson quién encuentra la diseminación al diagnóstico y el porcentaje de resección como variables relacionadas de forma significativa con el pronóstico de los pacientes ($p=0.007$).⁴⁶

En lo referente a la sobrevida asociada a la edad, no se encontró una diferencia significativa entre aquellos menores o mayores de 3 años (66% vs 70%), sin embargo es importante señalar que nuestro grupo de pacientes es pequeño y muy heterogéneo en cuanto a las edades para descartar esta variable como factor asociado de a la sobrevida. Esta ausencia de significancia pudo estar relacionada con la poca proporción de pacientes menores de 3 años (15%) vs el grupo conformado por los mayores de esta edad (85%).

En los niños con meduloblastoma es importante entender que son muchos los factores que deben de tomarse en cuenta para poder estratificar el riesgo. Siguen siendo los factores clínicos, como la diseminación a neuroeje y la resección parcial de la tumoración muy importantes para estratificar el riesgo, y siempre deberán tomarse en cuenta.

En el 2008 Gajjar se equivocó al pretender tomar como factor pronóstico independiente la expresión del ERBB2 en la estratificación del riesgo y sobrevida de los niños con meduloblastoma; al considerar, que aquellos que presentaban dicha expresión tenían una sobrevida del 40%, comparado con el 100% de sobrevida a 5 años para aquellos niños que no presentaban dicha alteración, haciendo a un lado todos los factores clínicos ya conocidos. ⁴⁷

De hecho, muchos autores, incluyendo la serie de pacientes de este hospital, tampoco encontraron una correlación directa entre la expresión de este gen y la sobrevida de niños con meduloblastoma.⁴⁵

El interés del presente trabajo es tratar de estratificar de manera más correcta a los niños con meduloblastoma para poder ajustar y dirigir de una manera más adecuada la terapéutica.

Es evidente, que aquellos niños que pertenecen al subgrupo 3 y que tienen diseminación a neuroeje tendrán un peor pronóstico, y requerirán una estrategia terapéutica más agresiva. Por otro lado, aquellos pacientes que correspondan al subgrupo WNT, que no tengan diseminación a neuroeje y que hayan sido sometidos a una resección total del tumor, tal vez requerirán un tratamiento mucho menos intenso y de menor duración sin comprometer la sobrevida.

Por último aunque no menos importante, es interesante contrastar la sobrevida global encontrada en este estudio, del 69.2%, prácticamente igual a la reportada en el 1998 por López y colaboradores en pacientes con meduloblastoma de alto riesgo tratados en este mismo hospital con quimioterapia doble droga (carboplatino/etoposido) más radioterapia, con sobrevida global a 60 meses de 69% y toxicidad hematológica reversible y bien tolerada.

CONCLUSIONES

- * Los 4 subgrupos de meduloblastoma difieren en varios aspectos, que incluyen características genéticas, demográficas, clínicas y pronósticas.
- * Aun cuando no se demostró significancia estadística en la supervivencia de acuerdo a los subgrupos de meduloblastoma (muestra pequeña de pacientes) es importante recalcar que junto con los criterios ya establecidos (edad, residual tumoral, histología, diseminación a neuroeje), los subgrupos moleculares representan un factor pronóstico importante para la estratificación de pacientes y determinación de la supervivencia.
- * Al momento actual, la elección del mejor tratamiento se da en base a la conjunción de factores, tanto clínicos como radiológicos y moleculares.

BIBLIOGRAFIA

1. Ries LA, Percy CI, Bunin GR. Introduction-SEER Pediatric Monograph En: Ries I, Smith M, Gurney JG, eds. Cancer incidence and survival among children and adolescents: United States SEER Program 1975-1995. Bethesda MD: National Cancer Institute. SEER Program, NIH (Pub No. 99-4649); 1999. pp. 1-15.
2. Magrath I, Gad-el-Mawla N, Peng HL, Spelman S, Camargo B, Petrilli S, Diez B, Becul, Williams C. Pediatric Oncology 2nd ed. Philadelphia: J.B. Lippincott 1993: 1225-1251.
3. Arora RS, Alston RD, Eden TO, et al. Age-incidence patterns of primary CNS tumors in children, adolescents, and adults in England. *Neuro Oncol* 2008;11(4):403-413
4. Central Brain Tumor Registry of the United States. Fact Sheet. Stromberg Allen Company, 2009.
5. Fajardo-Gutiérrez, A. Mortalidad por cáncer en niños. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2005;62:1-3
6. Greenberg RS, Shuster JL. Epidemiology of cancer in children. *Epidemiol Rev* 1985;7:22-48
7. Rivera Luna R, Niembro A, Zarco A, et al. Meduloblastoma en pediatría. Pronóstico y Tratamiento en la actualidad. *Gac Med Méx* 2007;143:415-420
8. Crawford JR, Ohgazi H, Wiestler O, et al. The 2007 WHO Classification of tumors of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007;114:97-109
9. The Childhood Brain Tumor Consortium. A study of childhood brain tumors based on surgical biopsies from ten North American institutions: sample description. *J Neurooncol* 1988;6:9-23.
10. Kernohan JW. Tumors of congenital origin En: Minkler J, ed. Pathology of the nervous system. New York: McGraw-Hill; 1971. pp. 1927-1937.
11. Gilberston R, Wickramasinghe C, Hernan R, et al. Clinical and molecular stratification of disease risk in medulloblastoma. *Br J Cancer* 2001;85:705-12
12. Lopez E, Sepulveda AC, Rivera H, et al. Clinical and molecular parameters of risk stratification in Mexican children con medulloblastoma. *Archives of Medical Research* 2007;38:769-773
13. Grotzer MA, von Hoff K, von Bueren AO, et al. Which clinical and biological tumors markers proved predicitive in the prospective multicenter trial HIT'91— implications for investigating childhood medulloblastoma. *Klin Pediatr* 2007;219:312-7

14. Gilberston RC, Jarros EB, Perry RH, et al. Prognostic factors in medulloblastoma. *Lancet* 1992; 340-480
15. Segal RA, Gourmnerova LC, Kwon JK, et al. Expression of the neurotrophin receptor TrkC is linked to a favorable outcome in medulloblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:12867-71
16. Taylor MD, Northcott PA, Korshunov A, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathol* 2011; 123:465–472
17. Cho YJ, Tsherniak A, Tamayo P, et al. Integrative genomic analysis of medulloblastoma identifies a molecular subgroup that drives poor clinical outcome. *J Clin Oncol* 2011;29:1424-30
18. Kool M, Korshunov A, Remke M, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: An interational meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of wnt, shh, group 3 and group 4 medulloblastomas. *Acta Neuropatho* 2011
19. Clifford S, Lusher M, Lindsey J, et al. Wnt/winglees pathway activation and chromosome 6 loss characterize a distinct molecular subgroup of medulloblastomas associated with a favourable prognosis cell cycle 2006;5:2666-2670
20. Ellison DW, Dalton J, Kocak M, et al. Medulloblastoma: clinico-pathological correlates of SHH, WNT and non-SHH/WNT molecular subgroups. *Acta Neuropathol* 2011;121:381-96
21. Northcott P, Korshunov A, Witt H et al. Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. *J Clin Oncol* 2011;29:1408-14
22. Ellison DW, Kocak M, Dalton J, et al. Definition of disease-risk stratification groups in childhood medulloblastoma using combined clinical, pathologic, and molecular variables. *J Clin Oncol* 2011;29:1400-07
23. Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, et al. The molecular basis of Turcot's syndrome. *N Engl J Med* 1995;332:839-47
24. Zurawell RH, Chiappa SA, Allen C, et al. Sporadic medulloblastomas contain oncogenic beta-catenin mutations. *Cancer Res* 1998;58:896-99
25. Rogers HA, Miller S, Lowe J et al. An investigation of WNT pathway activation and association with survival in central nervous system primitive neuroectodermal tumours 2009;100:1292-1302
26. Thompson MC, Fuller C, Hogg TL, et al. Genomics identifies medulloblastoma subgroups that are enriched specific genetic alterations 2006;24:1924-30
27. Bale SJ, Falk RT, Rogers GR. Patching together the genetics of Gorlin syndrome, *J Cutan Med Surg* 1998;3:31-34

28. Taylor MD, Mainprize TG, Rutka JT. Molecular insight into medulloblastoma and central nervous system primitive neuroectodermal tumor biology from hereditary syndromes: a review. *Neurosurgery* 2000;47:888-901.
29. Northcott P, Hielscher T, Dubuc A, et al. Pediatric and adult sonic hedgehog medulloblastomas are clinically and molecularly distinct. *Acta Neuropathol* 2011;122:231-240
30. Taylor MD, Liu L, Raffel C, et al. Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma. *Nat Genet* 2002;31:306-310
31. Al-Halabi H, Nantel A, Klekner A, et al. Preponderance of sonic hedgehog pathway activation characterizes adult medulloblastoma. *Acta Neuropathol* 2011;121:229-239
32. Buonamici S, Williams J, Morrissey M, et al. Interfering with resistance to smoothed antagonists by inhibition of the PI3K pathway in medulloblastoma. *Sci Transl Med* 2010;2:51-70
33. Yauch RL, Dijkgraaf GJ, Alicke B, et al. Smoothed mutations confers resistance to Hedgehog pathway inhibitor in medulloblastoma. *Science* 2009;326:572-74
34. Kool M, Koster J, Bunt J, et al. Integrated genomics identifies five medulloblastomas subtypes with distinct genetic profiles, pathway signatures and clinicopathological features. *PLoS ONE* 2008;3:3088
35. Taylor MD, Northcott P, Korshunov A, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathol* 2012;123:465-72
36. Lopez E, Sepulveda AC, Rioscovian AP, et al. Pediatric brain tumors. Current status of diagnosis and treatment. *Arch Med Res* 2011;10:41-45
37. Lopez E, Sepulveda AC, Boehler A, et al. Overexpression of AKT as prognosis factors in medulloblastoma pediatric patients. *Arch Med Res* 2011;10:26-31
38. Gibson Paul, Tong Yiai, Robison Giles et al. Subtypes of medulloblastoma have a distinct developmental origins. National Institute of Health. PMC 2011;10:1-11
39. Sierrasesúmaga L, Antillón F, Bernaola E et al. *Tratado de Oncología Pediátrica*. Ed PEARSON EDUCACION. ed 2006; Madrid España: 456
40. Ellison DW, Childhood medulloblastoma: novel approaches to the classification of a heterogeneous disease. *Acta Neuropathol* 2010; 120: 315-316
41. Packer RJ (2010) Risk stratification of medulloblastoma: a paradigm for future childhood brain tumor management strategies. *Curr Neurol Neurosci Rep.* doi:10.1007/s11910-010-0168-5 (on line, early release)
42. Pizer BL, Clifford SC. The potential impact of tumour biology on improved clinical practice for medulloblastoma: progress towards biologically driven clinical trials. *Br J Neurosurg* 2009; 23:364-375

43. López E, Sepulveda AC, Rivera HM et al. Preirradiation Ifosfamide, Carboplatin, and Etoposide for the treatment of anaplastic astrocytomas and glioblastoma multiforme. A Phase II study. Arch Med Res 2000;31:186-190.
44. Northcott PA, Shih DJ, Peacock J, Garzia L. Subgroup – structural variation across 1,000 medulloblastoma genomes. MAGIC (Medulloblastoma Advanced Genomics International Consortium). Nature 2012;488:49-56
45. Lopez AE, Sepulveda VA, Rivera MH et al. Clinical and molecular parameters for risk stratification in Mexican children with medulloblastoma. Arch Med Res 2007;18:769-773
46. Gilbertson R, Wickramasinghe C, Hernan R et al. Clinical and molecular stratification of disease risk in medulloblastoma. British Journal of Cancer 2001;5:705-712.
47. Gajjar A, Hernan R, Kocak M et al. Clinical, histopathological and molecular markers of prognosis toward. A new disease risk stratification system for medulloblastoma. J. Clinical. Oncol. 2009;22:984-993.
48. Lopez AE, Sepulveda VA, Rivera MH et al. Survival of patients with medulloblastoma treated with carboplatin and etoposide before and after radiotherapy. Arch Med Res 1998;29:313-317.

ANEXOS

1. Subgrupos moleculares del meduloblastoma

Subgrupos moleculares del meduloblastoma						
CONSENSUS	WNT	SHH	Group 3	Group 4		
Cho (2010) Northcott (2010) Kool (2008) Thompson (2006)	C6 WNT A B	C3 SHH B C, D	C1/C5 Group C E E, A	C2/C4 Group D C/D A, C		
DEMOGRAFICOS						
Edad						
Sexo	♂♂:♀♀	♂♂:♀♀	♂♂:♀	♂♂:♀		
DATOS CLINICOS						
Histología	Clásico, raro LCA	Desdiferenciado/medular: Clásico, LCA	Clásico, LCA	Clásico, LCA		
Metastasis	Raro M+	M+ poco común	M+ muy frecuentes	M+ frecuentes		
Pronóstico	Muy Bueno	Lectantes Buen Ex, Otras intermedio	Mal Ex.	Ex intermedio		
GENETICOS						
	Mutación CTNNB1	Mutación PTCH/SMO/SUFU, Amplificación GUSL	Amplificación MYC	Amplificación CDK6 y MYCN		
EXPRESION GENETICA	Via WNT MYC+	Via SHH MYCN+	MYC ***	Neuronal/ Glutinélica, MYC mínima/MYCN		

2. Técnica de inmunohistoquímica

DESPARAFINAR

Colocar en la parrilla a 60° por 30 minutos

Uso del tren:

Reposar en xileno 5 minutos para retirar exceso de parafina

Xileno (recipiente 2) 10 lavados y escurrir

Alcohol absoluto 10 lavados y escurrir

Alcohol al 70% 10 lavados y escurrir

Alcohol al 50% 10 lavados y escurrir

Agua bidestilada (agua inyectable) 1 minuto, mantener húmedo

TBS (Puede permanecer hasta 1 día ya esta hidratado)

RECUPERACIÓN

Enjuagar en agua bidestilada 10 lavados y escurrir

Sumergir en DIVA y con el vaso se pasa a la olla en 500 ml. De agua de garrafón y destilada.

Esperar:

1era. Alarma start / stop continua...

2da. Alarma "Aviso de término".

- La solución tendrá aspecto lechoso y se deberá sacar de la olla junto con el recipiente para esperar a que se temple con la temperatura ambiente en un aproximado a 20 minutos.

Escurrir y sumergir en agua bidestilada 10 lavados y escurrir,

Pasar a TBS (termina la recuperación).

INMUNOHISTOQUÍMICA

Del TBS se pasan a la IQ Kinetic (estufa) secando una por una y deben estar dentro del primer cubo para mantener las laminillas húmedas.

Se retira el exceso de agua con una gasa y se usa el pap pen, se colocan una a una en el IQ Kinetic "HUMECTAR" con TBS.

Escurrir

1.- Aplicar background sniper dropper bottle (azul)

1 a 3 gotas 25° por 10 minutos Lavar / enjuagar

2.- Aplicar primary antibody

1 a 3 gotas 25° por 60 o 30 minutos Lavar / enjuagar

3.- Aplicar Mach 1 Mouse Probe Dropper Bottle (amarillo)

1 a 3 gotas 25° por 15 minutos Lavar / enjuagar

4.- Aplicar Mach 1 Universal HRP-Polymer Dropper Bottle (naranja)

1 a 3 gotas 25° 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 lavados en agua amoniaca).

7.- Regresamos al tren con 10 lavados en:

Agua bidestilada	10 lavados y escurrir
Alcohol al 50%	10 lavados y escurrir
Alcohol al 70%	10 lavados y escurrir
Alcohol absoluto	10 lavados y escurrir
Xileno (recipiente 1)	10 lavados y escurrir
Xileno (recipiente 2)	10 lavados y escurrir

Montaje:

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

Se utilizaron como controles positivos: carcinoma colónico para beta catenina y tejido amigdalino para el resto de anticuerpos.

3. Subgrupos de medulosblastoma mediante la función de inmunohistoquímica

	Beta catenina		GAB1		NPR3		KCNA1	
	Inten	Exten	Inten	Exten	Inten	Exten	Inten	Exten
Paciente 1			++	80%				
Paciente 2	++	90%						
Paciente 3							++	60%
Paciente 4							+++	70%
Paciente 5			++	70%				
Paciente 6							++	80%
Paciente 7							++	80%
Paciente 8	+	20%	+	10%	+	20%	+	20%
Paciente 9	+++	80%						
Paciente 10			++	60%				
Paciente 11			++	70%				
Paciente 12			+++	70%				
Paciente 13	+	10%	-	-	+	20%	-	-
Paciente 14							++	50%
Paciente 15			+++	60%				
Paciente 16					++	80%		
Paciente 17			++	50%				
Paciente 18			++	80%				
Paciente 19					+++	70%		
Paciente 20			++	90%				
Paciente 21					++	60%		
Paciente 22							+++	80%
Paciente 23							++	80%
Paciente 24			+++	70%				
Paciente 25	++	90%						
Paciente 26							++	60%

4. Consentimiento informado



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE PEDIATRIA C.M.N. SIGLO XXI

Carta de consentimiento informado

Médico Responsable: Dr J Enrique López Aguilar.

México, DF a _____ de _____ de _____.

A través de este conducto nos permitimos informar que hemos aceptado que Mi hijo (a):
_____ **participe en el estudio**
denominado

“ASOCIACION DE SUBGRUPOS MOLECULARES DEL MEDULOBLASTOMA CON SOBREVIDA EN EL HOSPITAL DE PEDIATRIA CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI”. que se realizará en el Hospital de Pediatría el Centro Médico Nacional “Siglo XXI” del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Se ha hecho de nuestro conocimiento que el propósito del proyecto es estudiar la sobrevida de los pacientes con meduloblastoma, como es el caso de nuestro hijo (a), en base a las alteraciones citogenéticas que presentan. La finalidad de este estudio es, que en un futuro se pueda ofrecer a pacientes con la misma enfermedad tratamientos más específicos e individualizados que puedan mejorar la sobrevida de los niños con esta enfermedad.

El estudio consiste en realizar estudios de inmunohistoquímica en los bloques de parafina obtenidos de la resección quirúrgica inicial, así como un estudio molecular en tejido en fresco y análisis de la sobrevida de estos pacientes.

Hemos sido informados que la participación en el estudio es voluntaria sin que esto repercuta en la atención futura de nuestro hijo. De la misma manera, se nos ha ofrecido que la información derivada del estudio tendrá un manejo absolutamente confidencial y se encuentra respaldado por el comité de Investigación de este hospital. También se nos aseguró que en cualquier momento que tengamos alguna duda o inquietud nos será resuelta por el Dr. J.E López Aguilar y la Dra María de los Angeles Ruíz Piña, residente de segundo año de oncología, localizándolos en Centro Médico Nacional Siglo XXI Hospital de Pediatría, Departamento de Oncología, localizado en Avenida Cuauhtemoc núm 330, Col Doctores. Tel: 01 (55) 56276900 las 24 hrs 5556880063. Correo Electrónico: gelys_@hotmail.com.. Tenemos de nuestro conocimiento, que a nuestro hijo se le informará y podrá también estar de acuerdo o negarse al estudio.

Los costos de este estudio no será ninguno para nosotros.

Su firma en este documento significa que ha decidido autorizar a su hijo/a a participar en el estudio:
“ASOCIACION DE SUBGRUPOS MOLECULARES DE MEDULOBLASTOMAS CON SOBREVIDA EN EL HOSPITAL DE PEDIATRIA CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI”

Padre

Madre

Testigo

Testigo

Dr. Enrique López Aguilar
Jefe Del Servicio de Oncología

Dra. María de los Angeles Ruíz Piña
Residente de 2° año de Oncología

5. Hoja de Recolección de Datos

“ASOCIACION DE SUBGRUPOS MOLECULARES DEL MEDULOBLASTOMAS CON SOBREVIDA EN PACIENTES PEDIATRICOS CON MEDULOBLASTOMA ATENDIDOS EN EL HOSPITAL DE PEDIATRIA CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI”

Nombre: _____

Afiliación: _____

Edad: _____

Sexo: _____

Fecha de Diagnóstico: _____

Número de PQ: _____

Diagnóstico histopatológico: _____

Positividad por inmunohistoquímica:

Beta catenina GAB1 NPR3 KCNA1

Metástasis al diagnóstico: SI NO

Quimioterapia utilizada y dosis: _____

Radioterapia utilizada y dosis: _____

Fecha de última cita: _____

Fecha de defunción: _____

6. Cronograma de actividades

Actividad/ Mes	JUNIO AGOSTO 2013	SEPTIEMBR 2013	OCTUBRE NOVIEMBR 2013	DICIEMBRE ENERO 2014	FEBRERO MARZO 2014	ABRIL 2014	MAYO 2014
Búsqueda de información e integración del protocolo	X						
Presentación del protocolo		X					
Realización de correcciones			X				
Recolección de datos				X			
Análisis de datos					X		
Presentación de resultados						X	X