



Tesis

***Universidad Nacional Autónoma de México**
Facultad de Medicina

División de estudios de posgrado

***Instituto Mexicano del Seguro Social**

Centro Médico Nacional Siglo XXI

Unidad Médica de Alta Especialidad

Hospital de Pediatría
Dr. Silvestre Frenk Freund



Como parte de los requisitos para

Obtener el Título de
ESPECIALISTA EN PEDIATRÍA MÉDICA

“EXPRESIÓN DE P53 POR INMUNOHISTOQUIMICA EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS CON TUMOR DE WILMS ASOCIADO COMO
FACTOR DE MAL PRONÓSTICO “

Tesista:

Dra. Yocelin Helena Hernández Ramírez

Tutora:

Dra. Yadira Betanzos Cabrera¹

1.-Médico oncólogo pediatra, Médico de base Servicio de Oncología del HP CMN Siglo XXI

México, DF, Abril 2015



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.

TUTORES

**DRA. YADIRA BETANZOS CABRERA
INVESTIGADOR RESPONSABLE
MÉDICO ONCÓLOGO PEDIATRA HP CMN SIGLO XXI**

**DR. ENRIQUE LÓPEZ AGUILAR
INVESTIGADOR ASOCIADO
JEFE DE SERVICIO DE ONCOLOGÍA
MÉDICO ONCÓLOGO PEDIATRA HP CMN SIGLO XXI**

**DR. MIGUEL ÁNGEL VILLASIS KEEVER
INVESTIGADOR ASOCIADO
MÉDICO PEDIATRA HP CMN SIGLO XXI.**

**DRA. GEORGINA SIORDIA REYES
INVESTIGADOR ASOCIADO
MÉDICO ANATOMOPATOLOGO, HP CMN SIGLO XXI**

Colaboradores:

***Dr. Marco Antonio Rodríguez Florido
Médico Anatomopatólogo, patólogo oncológico, neuropatólogo y maestro en ciencias
médicas.**

MEXICO



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

2014, Año de Octavio Paz.

Dictamen de Autorizado

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

FECHA 16/12/2014

DRA. YADIRA BETANZOS CABRERA

P R E S E N T E

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

P53 POR INMUNOHISTOQUIMICA EN TUMOR DE WILMS CORRELACIONADO COMO FACTOR DE MAL PRONOSTICO EN PACIENTES PEDIATRICOS

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-2014-3603-74

ATENTAMENTE


DR. (A). HERMINIO DE LA CRUZ YANEZ
Presidente del Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud No. 3603

IMSS

SECRETARÍA DE SALUD FEDERAL

Instituto Mexicano del Seguro Social
Centro Médico Nacional siglo XXI

Unidad Médica de Alta Especialidad

Hospital de Pediatría
Dr. Silvestre Frenk Freund

Tesis para obtener el Título de Especialidad en Pediatría Médica

Que presenta:

Yocelin Helena Hernández Ramírez.

“Expresión de P53 por inmunohistoquímica en pacientes pediátricos con tumor de Wilms asociado como factor de mal pronóstico”

abril 2015



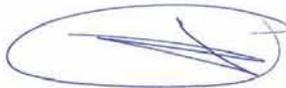
Presidente

Dra. María Guadalupe Miranda Novales



Secretario

Dra. Amanda Idaric Olivares Sosa



Vocal

Dra. Martha Valdés Sánchez



Vocal

Dr. Mario Enrique Rendón Macías



"2015, Año del Generalísimo José María Morelos y Pavón".

Solicitud de Enmienda

FECHA: **Martes, 08 de septiembre de 2015**

Estimado HERMILO DE LA CRUZ YÁÑEZ

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

P R E S E N T E

Por medio del presente solicito de la manera más atenta, se sirva realizar la enmienda el protocolo de investigación con título: "P53 POR INMUNOHISTOQUIMICA EN TUMOR DE WILMS CORRELACIONADO COMO FACTOR DE MAL PRONOSTICO EN PACIENTES PEDIATRICOS" que se registró a través del SIRELCIS ante éste Comité Local de Investigación y Ética en Investigación Salud.

En los puntos que a continuación se exponen:

Cambio de título		
Título actual	Título propuesto	Justificación
P53 POR INMUNOHISTOQUIMICA EN TUMOR DE WILMS CORRELACIONADO COMO FACTOR DE MAL PRONOSTICO EN PACIENTES PEDIATRICOS	EXPRSION DE P53 POR INMUNOHISTOQUIMICA EN PACIENTES PEDIATRICOS CON TUMOR DE WILMS ASOCIADO COMO FACTOR DE MAL PRONOSTICO	DEBIDO AL TAMAÑO DE MUESTRA CON EL QUE CONTAMOS NO SE PUDO REALIZAR LA CORRELACION.

Atentamente,

Dr(a). Yadira Betanzos Cabrera

Investigador Responsable del Protocolo

Investigadores asociados al
protocolo

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a Dios por guiarme y darme la fortaleza necesaria para realizar la especialidad. Al Dr. Cazares que me brindó la oportunidad de realizar mi residencia en esta unidad. A mis padres en especial a mi madre Carmen que siempre me apoya tanto en lo profesional como en lo personal, siempre presente en mis alegrías, tristezas, logros y derrotas, enojos y llanto (“Te amo mucho mami gracias por todo”), a mi padre Antonio por haberme enseñado y dado las herramientas necesarias para lograr mis objetivos, metas y sueños, en especial a mis hermanos y respectivas parejas por entenderme y animarme en los momentos difíciles, a mis sobrinos por siempre estar pendientes de mí. Quiero mencionar a todos mis amigos y familiares que en algún momento me apoyaron, pero en especial a mi gran amiga Gisel porque lo que parecía un sueño ahora es realidad y a mi amigo Alex por haberme tolerado en todos estos años y apoyado en los momentos más difíciles. A mis nuevos amigos de la residencia “grupo de estudio” por impulsarme y apoyarme en todo momento, enseñándome cosas para la vida.

Gracias a la Dra. Betanzos, la Dra. Siordia, el Dr. Villasis y la Dra. Herrera por darme la oportunidad de trabajar con ustedes, guiarme y enseñarme, gracias por su tiempo.

Finalmente gracias a mis pacientes y sus familiares, por darme la oportunidad de aprender, así como a cada uno de mis profesores de ésta unidad que de alguna manera contribuyeron en mi formación como Pediatra.

Gracias.

ÍNDICE:

Antecedentes

Justificación

Planteamiento del problema

Pregunta de Investigación

Hipótesis

Objetivo

Material y métodos

 Tipo de estudio

 Diseño del estudio

 Población en estudio

 Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

 Desarrollo del estudio

 Calculo del tamaño de muestra

 Plan de análisis estadístico

Definición y clasificación de las variables

Factibilidad y recursos financieros

Aspectos éticos de la investigación

Cronograma de actividades

Resultados



Discusión

Conclusión

Bibliografía

Anexo

RESUMEN

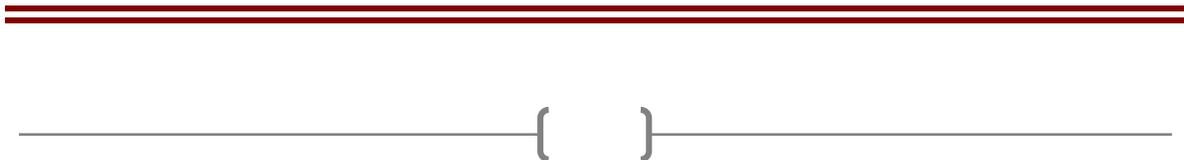
EXPRESIÓN DE P53 POR INMUNOHISTOQUIMICA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON TUMOR DE WILMS ASOCIADO COMO FACTOR DE MAL PRONÓSTICO

Hernández Ramírez Y. H., Betanzos Cabrera Y., López Aguilar E., Villasis Keever MA., Siordia Reyes .Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, México D.F.

ANTECEDENTES: El tumor de Wilms (TW) es la neoplasia renal más frecuente en la edad pediátrica, representa un tercio de las neoplasias embrionarias, afecta con mayor frecuencia a pacientes del sexo femenino con una proporción 1/0.8, dentro del cuadro clínico cursa asintomático, es de etiología desconocida en la mayoría de los casos, sin embargo en 5 % de los pacientes con tumor de Wilms, se identifica una mutación genética relacionadas a alteraciones del cromosoma 11 del gen p53. Se considera una neoplasia embrionaria, histológicamente son 4 tipos celulares (blastemal, epitelial, rabdoide y mesenquimal) es bifásica o trifásica dependiendo de su contenido de distintas estirpes celulares. Los factores pronósticos más importantes son la histología y el estadio, de éstos dependerá el tratamiento que puede incluir la cirugía, quimioterapia y radioterapia. El gen p53 es considerado el guardián del genoma, por tanto alguna alteración en su conformación produce más de un 50% de las neoplasias en general. El papel de la expresión de p53 en el TW todavía no es muy claro, pero se ha confirmado su vinculación con anaplasia y estadios avanzados de la enfermedad. Algunos estudios han demostrado que la expresión de p53 detectado por inmunohistoquímica en el TW se asocia a enfermedad avanzada y recurrencia. La identificación de la expresión de p53 proporciona un conjunto de marcadores moleculares y test que pueden redefinir los criterios para el diagnóstico del cáncer y abrir nuevas posibilidades para su detección y tratamiento precoz e individualizado. La tinción con inmunohistoquímica está basada en la detección de la proteína que se acumula en el núcleo y citoplasma debido a un cambio conformacional que alarga su vida media, ayudando a identificar el marcador tumoral p53, considerando éste como factor pronóstico del tumor de Wilms.

OBJETIVO: Se determinó la frecuencia de aquellos pacientes con diagnóstico de tumor de Wilms de acuerdo a la expresión del marcador tumoral p53 por inmunohistoquímica a 5 años del diagnóstico.

HIPÓTESIS: Los pacientes con tumor de Wilms que tenga expresión de p53 tendrán una sobrevida menor del 40% comparados con quienes no lo expresan.



MATERIAL Y METODOS: Se trata de un estudio, analítico, ambielectivo, longitudinal, como diseño del estudio una Cohorte retrospectiva, se incluirán a todos los pacientes con diagnóstico histológico de certeza, atendidos en la UMAE Hospital de pediatría del Centro Médico Nacional SXXI, desde el 1° de Enero del 2009 al 1° de Enero del 2014, de sexo indistinto, edad entre 1 y 17 años, diagnosticados de primera vez en esta institución sin tratamiento al momento del diagnóstico y que cuenten con la muestra de parafina suficiente para realizar la tinción por inmunohistoquímica para la determinación de p53 y posteriormente se realizará la asociación de sobrevida con aquellos que expresen p53.

ANALISIS ESTADISTICO: En un inicio se utilizaran los datos con la estadística descriptiva, utilizando medidas de tendencia central (media, mediana y moda) y dispersión para variables cuantitativas. Para las variables nominales y ordinales se calcularan las proporciones y los intervalos de confianza. Se calculará el riesgo relativo (RR), para buscar asociaciones entre dos variables de carácter cualitativo (dicotómicas) y para validar el peso de cada variable en el pronóstico de estos pacientes se utilizará regresión múltiple.

RESULTADOS:

Se identificaron 68 pacientes con diagnóstico de tumor de Wilms en un periodo de 5 años (2009-2014), de los cuales solo 20 pacientes cumplieron con los criterios de inclusión. Se registraron 10 niños (50%) y 10 niñas (50%). La mediana de edad al momento del diagnóstico fue de 30 meses. Con un promedio de evolución de la enfermedad desde el momento del diagnóstico hasta la actualidad de 1 año 6 meses. El tratamiento actual con quimioterapia se registra en 17 casos (85%) y quimioterapia más radioterapia en 13 casos (65%). Se registraron 3 defunciones (15%) asociadas a eventos de fiebre y neutropenia durante el período de estudio. El estadio clínico de la enfermedad al momento del diagnóstico en nuestra población de estudio fue con mayor frecuencia el estadio IV con 10 casos (50%) 7 niñas (35%) y 3 niños (15%), con una mediana de edad de 44 meses al momento del diagnóstico, clínicamente en este grupo se encontró una masa abdominal palpable unilateral de predominio izquierdo en 7 casos (35%) con cadenas ganglionares afectadas principalmente en región inguinal y uno de estos casos ya presentaba metástasis pulmonares al momento del diagnóstico (éste último con afección renal bilateral). De los 4 tipos histológicos, la estirpe que predominó en nuestra población de estudio fue el tipo blastemal con reporte de 10 casos (50%) con un valor de $p=0.01$ estadísticamente significativo en relación a la expresión del marcador p53. La expresión del marcador p53 se observó en 18 casos (90%), 10 niños (50%) y 10 niñas (50%), con una mediana de edad de 33 meses al momento del diagnóstico, en éste grupo predominó la intensidad de expresión intermedia con 12 casos (60%), de los cuales 8 casos (40%) tuvieron expresión del gen p53 en más del 50%.

CONCLUSIONES:

- 1.- Aún cuando la expresión de p53 en los pacientes con tumor de Wilms se considera como un marcador de mal pronóstico asociado a estadio más avanzado y agresividad de la enfermedad, en el presente estudio no se pudo comprobarlo, tomando en cuenta que en nuestra población de estudio el período de evolución de la enfermedad es insuficiente para determinar su pronóstico a largo plazo.
- 2.-Sería conveniente continuar la evaluación prospectiva de la evolución de nuestra población de estudio, para determinar si la expresión de p53 tanto en intensidad como en porcentaje, puede asociarse con recurrencia o con la sobrevida de los pacientes pediátricos con tumor de Wilms.

Palabras clave: Tumor Wilms, marcador p53, expresión, estirpe histológica.

ANTECEDENTES:

El tumor de Wilms (TW) es la neoplasia renal más frecuente en la edad pediátrica, fue descrito por Max Wilms (1867-1918), también conocido como Nefroblastoma o embriona renal, representa un tercio de las neoplasias embrionarias en los niños, cuyo origen ha sido atribuido a trastornos en la histogénesis renal. A nivel internacional constituye el 6 a 7% de las neoplasias infantiles.¹⁻⁴ En Estados Unidos de América ocurre en 1 de cada 250 000 niños/ año ó 500 casos nuevos por año. En el 80% de los casos se presentan antes de los 5 años y rara vez aparece después de los 8 años. Es discretamente más frecuente en niñas que en niños con una razón de 1:0.8_{2,4}. En series de Europa y EUA las tasas más altas se han presentado en los menores de 5 años de edad (10-20 por

millón de niños/año).^{5,6} En México no se dispone de la frecuencia clara, sin embargo en estudios del Dr. Fajardo y colaboradores se reporta una frecuencia de 7.6 casos por millón de menores de 15 años en pacientes atendidos en el IMSS².

Generalmente es asintomático y se detecta por los cuidadores primarios durante el baño o al cambiarlos de ropa o pañal, de manera incidental como una masa abdominal palpable no dolorosa, la cual condiciona distensión abdominal. Las manifestaciones clínicas más frecuentes incluyen: masa abdominal palpable (75%), dolor abdominal (28%), hipertensión (26%), hematuria microscópica (24%), fiebre (22%) y hematuria macroscópica (18%)³.

La etiología es desconocida en la mayoría de los casos, sin embargo en 5% de los pacientes se identifica una alteración genética. Éstas pueden estar relacionadas a 3 mutaciones principales: una asociada al cromosoma 11 [mutación del gen WT (11q 13) que produce Síndrome de WARG (aniridia, malformaciones genitourinarias, retraso mental y tumor de Wilms) ó el Síndrome de Denys-Drash (pseudohermafroditismo, enfermedad degenerativa renal y tumor de Wilms), otra a la mutación del gen WT2 (11p15) [se asocia con hemihipertrofia, así como Síndrome de Beckwith- Wiedemann] ó alteración del gen GPC3 (Xq26) [asociado a Síndrome de Simpson- Golabi-Behmel] y otra del gen p53 (17p13) que produce el síndrome de Li-Fraumeni³.

Los factores pronósticos más importantes para la sobrevida de niños con tumor de Wilms en la actualidad siguen siendo la histología y el estadio evolutivo de la enfermedad al diagnóstico. Respecto a la histología se conocen dos tipos: la clásica o favorable y la anaplasia. El primero ésta compuesto por 3 tipos celulares (también llamado trifásico), pero con predominio siempre de algunos de ellos. El más frecuente es el blastemal caracterizado por ser muy invasivo en estadios avanzados pero muy quimiosensible. El epitelial caracterizado por su quimiorresistencia en estadios tempranos y el mesenquimal. El segundo es el anaplásico que representa el 8% de los tumores de Wilms, está constituido por células con marcada atipia nuclear (es un marcador importante en la quimiorresistencia, que no aumenta la agresividad ni la diseminación), existen 2 tipos de presentación: el focal (células atípicas confinadas en uno solo o escasos focos dentro del área tumoral) y el difuso (células diseminadas en más del 10% de los 400 campos examinados al microscopio)³. La presencia de anaplasia y de elementos sarcomatosos indican una histología desfavorable, se observa en aproximadamente el 8% de los pacientes con TW, lo cual se asocia a casi la mitad de las muertes. La anaplasia se considera un marcador de resistencia a la quimioterapia, por tanto, el estadio del tumor al diagnóstico, la presencia de anaplasia y la edad del

()

paciente, son los factores determinantes pronósticos más importantes que influyen en la selección del tratamiento.⁷

Respecto al segundo factor pronóstico ó el estadio evaluado mediante tomografía computarizada (TC) del abdomen/pelvis y el tórax, se clasifica de acuerdo al National Wilms Tumor Study Group (NWTS) en el sistema de estadificación en 4 estadios.⁷⁻¹⁰

Estadio I (43% de los pacientes), es un tumor limitado al riñón que se resecó por completo y permanece con la cápsula renal intacta. El tumor no se rompió ni se sometió a biopsia antes de la extracción. Los vasos del seno renal no están afectados, ni hay prueba del tumor en los márgenes de la resección o más allá de estos. Para que un tumor se califique en estadio I los ganglios linfáticos regionales se deben examinar con microscopio.

Estadio II (20% de los pacientes), el tumor está resecado por completo y no hay prueba de tumor en o más allá de los márgenes resecados. El tumor se extiende más allá de los riñones, para lo cual se consideran los siguientes criterios: extensión regional del tumor con penetración de la cápsula del seno renal o invasión extensa del tejido blando del seno renal, es decir, los vasos sanguíneos se encuentran dentro de la muestra de nefrectomía, fuera del parénquima renal e incluso aquellos del seno renal, contienen tumor.

Estadio III (21% de los pacientes), cuando se encuentra un tumor residual no hematógeno limitado al abdomen después de llevarse a cabo una cirugía. Se puede presentar cualquiera de las siguientes situaciones: En el tumor se encuentran a los ganglios linfáticos dentro del abdomen o en la pelvis; penetra la superficie peritoneal y se encuentran implantes tumorales sobre la superficie peritoneal; macroscópico o microscópico permanece después de la operación; no es completamente resecable debido a la infiltración local en las estructuras vitales y se produce un derrame del tumor antes o durante la cirugía; se trata con quimioterapia preoperatoria y se sometió a una biopsia (biopsia con aguja gruesa, biopsia abierta o aspiración con aguja fina) antes de extirparlo.

Estadio IV (11% de los pacientes), en el paciente se encuentran metástasis hematógenas (pulmones, hígado, hueso, cerebro) o presencia de metástasis ganglionares fuera de la región abdominal. (La presencia de un tumor dentro de la glándula suprarrenal no se interpreta como metástasis y la estadificación depende de todos los otros parámetros presentes previamente mencionados). Al tumor primario se le debe asignar un estadio local siguiendo los criterios arriba mencionados, lo cual determina la terapia local.



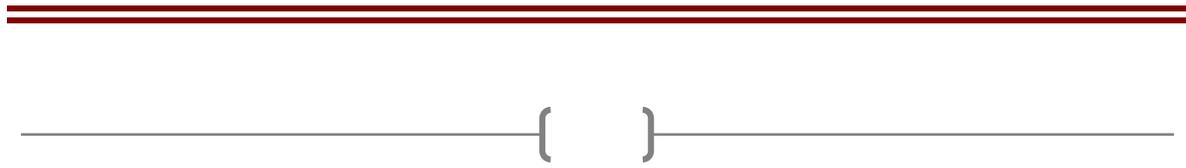
Estadio V (5% de los pacientes), cuando hay tumor bilateral en el momento del diagnóstico. Se debe intentar clasificar cada lado, según los criterios señalados de manera previa y de acuerdo con el alcance de la enfermedad.¹¹

En el Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, en 1996 el Dr. López Aguilar y colaboradores analizaron una serie de 39 pacientes con TW en los cuales se encontró que la sobrevida global a 5 años para los estadios I y II fue del 100%, para el estadio III fue del 86% y para el IV 72%. Esto varía discretamente con lo reportado por el NTWS para la sobrevida a 10 años en relación con los diferentes estadios del TW siendo del 94±6% para el estadio I, 86±8% para el estadio II y 71±8% para el estadio III con histología favorable y 36±8% para los estadios IV con histología favorable o I, II y III con histología desfavorable⁶. Como ya se ha mencionado los factores pronósticos para este tipo de tumor actualmente siguen siendo la histología y el estadio al momento del diagnóstico².

También se ha reportado que el estadio de la enfermedad influye en el riesgo de recurrencia, ya que en niños con estadios III, IV y V esta es del 16.2%, 15% y 37.9% respectivamente, encontrando que los niños en estadio II tienen un riesgo de recurrencia local 4 veces mayor si existe derramamiento del tumor durante el transoperatorio¹⁰.

Con los avances en la microscopia electrónica y la inmunohistoquímica se han realizado estudios donde se han demostrado nuevas vías las cuales posiblemente se encuentren involucradas en el pronóstico del tumor de Wilms, como son el P53, alteración de la vía de la telomerasa, Ki 67, y la βcatenina¹¹⁻¹⁴.

Actualmente uno de los factores pronósticos de sobrevida en estos niños más estudiado, es el gen supresor tumoral p53, que codifica una proteína de unión al ADN y es un componente importante de la respuesta celular frente a la lesión del propio ADN. Además es un factor que activa la transcripción de genes que interrumpen la división celular y que facilitan la reparación de las alteraciones del ADN¹¹. El gen p53 también está implicada en la inducción de la apoptosis en células que han sufrido una lesión irreparable del ADN, por tanto, la pérdida de la función de esta proteína permite la supervivencia de las células con ADN alterado, lo que da lugar a una posible propagación de mutaciones oncogénicas. Por ello, el gen p53 se conoce como el "guardián del genoma", el cual reduce la probabilidad de que una célula en un organismo multicelular se transforme en una célula cancerígena¹⁴.



Los genes supresores de tumores se encuentran en las células normales y generalmente inhiben la proliferación celular excesiva. Una mutación o una delección de un gen supresor tumoral, aumentará la probabilidad de que se produzca un tumor al perder su función. De esa manera un gen supresor tumoral alterado es similar a un oncogén¹⁵.

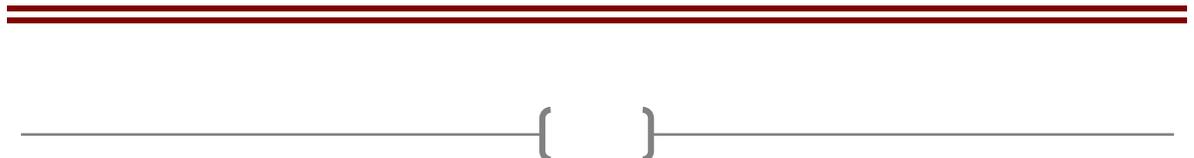
En esta tesis nos enfocaremos a la proteína de p53, la cual en células normales se expresa en la membrana y citoplasma celular, mientras que en células tumorales predomina en núcleo y citoplasma; encontrando que esta localización nuclear juega un papel importante tanto en el desarrollo como en la progresión del tumor, incrementando la capacidad invasiva y la habilidad metastásica de las células tumorales^{14, 15}.

El gen p53 se ha encontrado mutado en más del 50% de los cánceres humanos, por lo cual ha atraído el interés de numerosos investigadores, aunque una correlación entre anaplasia y las mutaciones del gen supresor de tumor p53 se ha encontrado en el tumor de Wilms (WT) un significado pronóstico de p53 en WT permanece en gran medida sin resolverse, ¹⁶.

En las células normales, las proteínas codificadas por el p53 detienen la progresión del ciclo celular en respuesta a un daño en el ADN o a señales de supresión del crecimiento provenientes del medio extracelular. Cuando los genes supresores de tumores están mutados o son inactivos, las células no pueden responder normalmente a los puntos de control del ciclo celular o son incapaces de realizar muerte celular programada si el daño del ADN es demasiado importante^{15,16}.

La prevalencia de la mutación de p53 varía entre los diferentes tipos de tumores, desde no existir hasta un 60%, pero puede ser mayor del 80% en algunos subtipos histológicos. El espectro de las mutaciones de p53 en los cánceres está dando claves sobre la etiología y patogénesis molecular de las neoplasias. Los cánceres con mutaciones en p53 son más agresivos, con mayor capacidad metastásica y a menudo fatales. Por tanto, la detección de las anomalías en p53 puede revelar aspectos del origen y evolución del cáncer humano. ¹⁶.

Las mutaciones del gen WT1 se asocian con tumor de Wilms.⁹ La correlación existente entre la expresión de la mutación del gen p53 y el tumor de Wilms aún no se entiende completamente; sin embargo se ha reportado una asociación entre la expresión del gen p53 y el pronóstico desfavorable del tumor de Wilms, así como estadios avanzados de la enfermedad.¹⁷.



Los intentos actuales de investigación a optimizar la intensidad del tratamiento para minimizar efectos secundarios, manteniendo su eficacia, sabiendo que la histología del tumor es el estándar de oro para determinar el pronóstico y establecer el postoperatorio, indican claramente la necesidad de reconocer nuevos factores pronósticos que serán capaces de discriminar entre los tumores letales y no letales de Wilms^{17,18}.

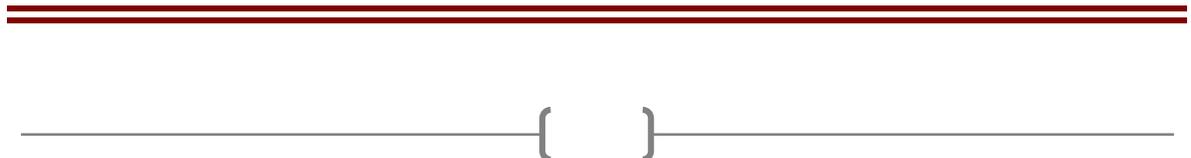
Por lo anterior, conforme los avances científicos han aumentado en las últimas décadas, también se ha incrementado el interés en investigar genes que sirvan como marcadores tumorales¹⁹.

Lane en 1992 describió el gen p53 como el guardián del genoma. Desde entonces, varios estudios han intentado identificar el valor de esta proteína supresora de tumores, se han utilizado diferentes técnicas para evaluar la expresión de p53, comparando la expresión con las de supervivencia y recurrencia en todos los pacientes con tumor de Wilms. Hay pocos estudios que han confirmado la correlación entre la sobreexpresión de la proteína p53 y estadio avanzado en el tumor de Wilms¹⁴.

El gen supresor de tumores p53 (TP53) es localizado en el cromosoma 17p13.1, varios estudios se han llevado a cabo para determinar el papel de esta expresión de la proteína como factor pronóstico en pacientes portadores de tumor de Wilms. La mayoría de estas encuestas han confirmado la correlación de la expresión de P53 con anaplasia¹⁵.

En cáncer de mama, colon, pulmón o cerebro, hay sobreexpresión de p53 en más del 50 % de estos, detectada por inmunohistoquímica y asociada con la progresión tumoral desfavorable y mal pronóstico. Esta sobreexpresión puede conducir a la pérdida de la función de p53. Como ya se ha mencionado, normalmente en respuesta a la lesión del ADN, los niveles celulares de p53 aumentan para lograr la detención del ciclo celular antes de la transición de la fase G1/S²⁰. En estas células, p53 activa la transcripción del gen p21 / cipi, que codifica la proteína p21 que se une a múltiples cinasas y bloquea la activación de complejos cinina/ cdk que conducen al arresto de la fase G1. P53 también participa en la reparación del ADN mediante la activación de los genes de reparación GADD45 y PCNA; alternativamente, p53 participa en la iniciación de la apoptosis mediante la interacción con otros productos génicos²⁰.

Chitra L., et. al. (1996) concluyeron en un estudio sobre el pronóstico del tumor de Wilms, que la expresión de p53 mediante inmunohistoquímica en diferentes estadios de la enfermedad, fue mayor



para los tumores metastásicos y recurrentes, en comparación con los tumores menos agresivos y en los primeros estadios de la enfermedad al contribuir a la malignidad y la progresión del tumor.²¹

Farzaneh, et. al (2011) al comparar la expresión de p53 según la histología del tumor de Wilms, encontraron mayor positividad en aquellos casos con histología desfavorable una más fuerte positividad a su expresión. En este estudio no se observó una asociación clinicopatológica significativa entre la etapa del tumor y la expresión de p53. Los pacientes en estadio IV (metastásico) fueron p53 fuertemente positivos, mientras que los estadios I a III (no metastásico) fueron únicamente positivos²².

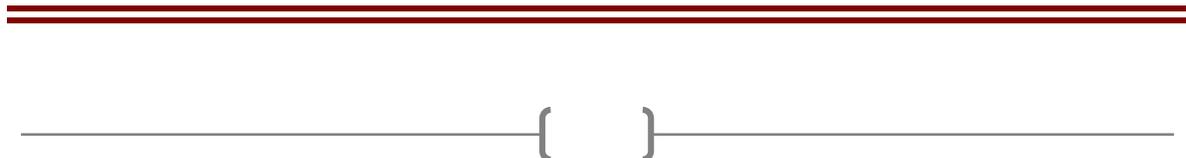
Sredni et al. (2001) encontró que la supervivencia global fue mayor en pacientes con resultados negativos para p53 en comparación a los positivos. En dicho estudio se concluyó que el aumento de la expresión de p53 parece estar asociada, tanto con la enfermedad avanzada, como con la recaída²³.

Huang et al. (2002) mostraron que la acumulación de p53 se asoció con la histología y con la angiogénesis, y además a una enfermedad más agresiva²⁴.

Nayaran, et. al (2012) realizaron un estudio de 20 casos de TW donde determinaron la expresión de marcadores de proliferación tumoral como ki67 y P53 por inmunohistoquímica, ellos no encontrando una correlación entre el estirpe histológico y la expresión del gen.

Lahotic, et. al. (2012) apoyaron que la mutación de p53 se correlaciona con la recurrencia y las metástasis.²⁵ Identificaron a p53 como un fuerte indicador pronóstico de sobrevida en niños con tumor de Wilms. Los que fueron positivos para p53 (94%) se asociaron con mayor riesgo de metástasis y recurrencia.

En otro estudio se evidenció que una puntuación más alta para la expresión de p53 por inmunohistoquímica, se correlacionó con una evolución clínica desfavorable en niños con tumor de Wilms, además de predecir una peor supervivencia²⁵. Por tanto, ellos consideran que ésta prueba podría ser útil en el análisis pronóstico del TW, aunado a la histología del tumor, la cual es aún el estándar de oro en la determinación del pronóstico y decisión terapéutica.



Para evaluar de manera uniforme la expresión de p53 por inmunohistoquímica, se tiñen muestras con proteína p53 obtenidas de los bloques de parafina con tejidos del tumor de Wilms con anticuerpo monoclonal de ratón, se analiza la intensidad y densidad en una investigación semicuantitativa, se contabilizan 100 células/campo de gran aumento (40x), interpretando y categorizando las muestras con las siguientes puntuaciones, para la densidad:

- 0: se asigna a menos del 5% de las células tumorales que expresan p53
- 1: si 5% a 50% expresan p53
- 2: si más del 50% es positivo para p53

Para evaluar la intensidad, se utiliza un método similar en el que una puntuación de:

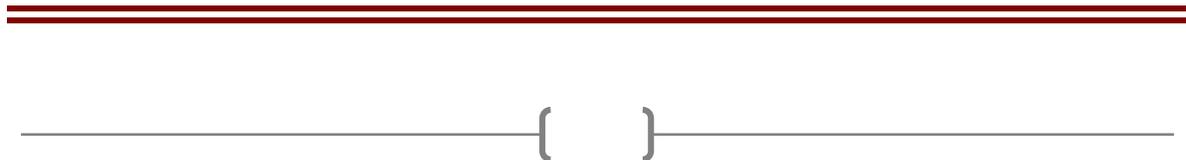
- 0: es sinónimo de débil o tinción ausente
- 1: es de intensidad intermedia
- 2: intensidad fuerte

Densidad e intensidad se combinan y se relacionan con la agresividad, recurrencia y supervivencia.

El TW es considerado el primer ejemplo de tumor maligno en el que se alcanzaron significativas tasas de curación gracias al empleo de quimioterapia multimodal, al desarrollo de técnicas quirúrgicas, al uso de quimioterapia neoadyuvante y al reconocimiento del papel de la radioterapia. Todas utilizadas en forma racional tienen un gran impacto en la supervivencia de esta neoplasia.¹

El tratamiento depende del estadio de la enfermedad, así como la clasificación del tumor de acuerdo a grupos de riesgo e incluye: quimioterapia, cirugía y radioterapia (terapia multimodal).

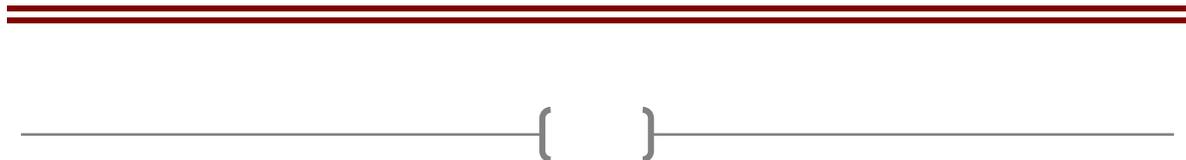
La alta sensibilidad del TW a la radioterapia y quimioterapia, el mejoramiento y diseño de un sistema de estadificación quirúrgico- patológico y el reconocimiento de factores pronósticos, han contribuido al desarrollo de esquemas terapéuticos basados en cirugía, quimioterapia multimodal y radioterapia dirigidos, los cuales al contar con nuevos marcadores pronósticos, ayudarán a mejorar la elección de los esquemas terapéuticos, todas tratando de limitar la toxicidad sin comprometer la supervivencia, la cual hasta la fecha es del 90%.²





JUSTIFICACIÓN:

Debido a los avances en el tratamiento de niños con cáncer, la sobrevivencia de los pacientes con tumor de Wilms se ha incrementado hasta el 90% a 5 años. Al momento actual la respuesta tumoral y la evolución de los pacientes con tumor de Wilms se evalúa de acuerdo al estadio de la enfermedad y a la histología. Existe aún un número de pacientes que continúan teniendo poca respuesta a protocolos de tratamiento. Los conocimientos acerca de los mecanismos moleculares implicados en la génesis del tumor de Wilms son necesarios para conducir nuevos protocolos terapéuticos más eficaces y útiles en el tratamiento de las numerosas formas de presentación de esta entidad. Por lo cual es necesario e importante conocer los marcadores moleculares y su relación con la histología y pronóstico de estos tumores que nos permitan tener una terapia dirigida e individualizada en estos pacientes y con ello permitirnos la identificación de aquellos que tengan peor pronóstico y tratarlos de manera más intensiva.

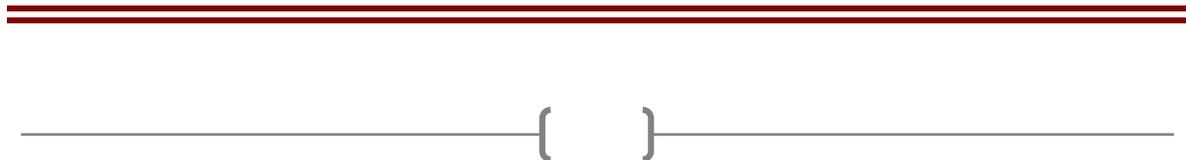


PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las últimas décadas los avances en quimioterapia y radioterapia han mejorado considerablemente las posibilidades de supervivencia de los niños afectados por patología oncológica. Sin embargo, la agresividad y el riesgo de recurrencia al momento del diagnóstico continúa siendo el obstáculo principal para su curación. Ya que los factores pronósticos para los pacientes con tumor de Wilms se limitan a la extensión de la enfermedad (estadio) y variante histológica, actualmente se han propuesto los marcadores tumorales (como la expresión de P53 mediante técnica de inmunohistoquímica) como factores de mal pronóstico que pudieran estar asociados a la agresividad del tumor y el riesgo de recurrencia de la enfermedad.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Existe asociación en la expresión de P53 por inmunohistoquímica como factor de mal pronóstico en niños con tumor de Wilms?



HIPÓTESIS

Los pacientes pediátricos con tumor de Wilms que expresen p53 tendrán asociación del 80% con progresión de la enfermedad comparados con quienes no lo expresan.

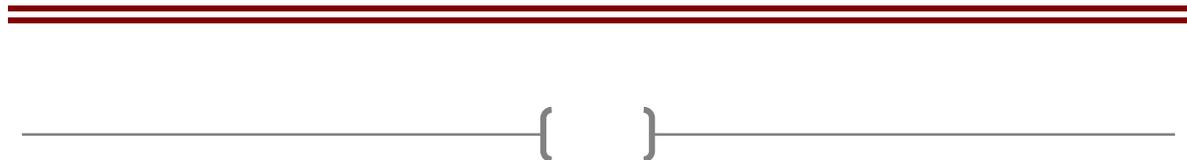
OBJETIVOS

Objetivo general:

Determinar la expresión de p53 en el núcleo de aquellos pacientes con diagnóstico de tumor de Wilms.

Objetivos específicos:

- 1.-Determinar la asociación del estirpe histológico con la expresión de p53
- 2.-Determinar la asociación de p53 con la progresión de la enfermedad



MATERIAL Y MÉTODOS

1.-TIPO DE ESTUDIO

Respecto a la intervención del investigador: observacional

Respecto a la interpretación de resultados: analítico

Respecto a la temporalidad: ambilectivo

Respecto a la medición: longitudinal

Estudio observacional, analítico, retrospectivo y longitudinal.

2.- DISEÑO DEL ESTUDIO:

Transversal (“ serie de casos”)

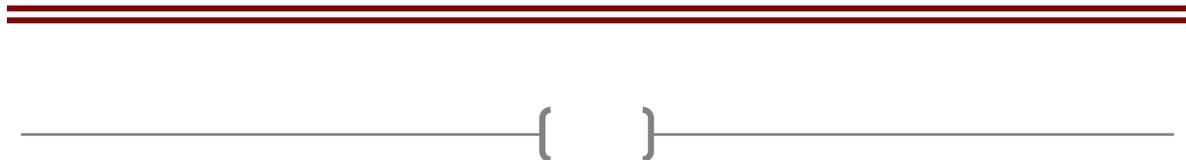
3.- POBLACION EN ESTUDIO:

Todos los pacientes con diagnóstico de certeza con tumor de Wilms atendidos en la UMAE Hospital de pediatría del Centro Médico Nacional SXXI, desde el 1° de Enero del 2009 al 1° de Enero del 2014

4.- CRITERIOS DE INCLUSIÓN, EXCLUSIÓN Y ELIMINACIÓN

Criterios de inclusión

- Pacientes de cualquier sexo, entre 1 y 17 años de edad con diagnóstico de certeza (por patología) de tumor de Wilms, realizado durante el periodo comprendido entre el 1° de Enero del 2009 y el 1° de Enero del 2014.
- Pacientes de primera vez sin tratamiento al momento del diagnóstico.
- Paciente que cuenten con expediente completo para establecer curso clínico de la enfermedad.
- Pacientes que completen tratamiento en esta unidad.



Criterios de exclusión

- Pacientes que no cuentan con bloques de parafina para realización del estudio de inmunohistoquímica
- Casos en los que el tejido estuvo mal conservado

Criterios de eliminación

- Pacientes en los que la muestra de parafina no fue suficiente para realizar la inmunohistoquímica.

A) Desarrollo del estudio:

Pasos para la realización del estudio con Inmunohistoquímica:

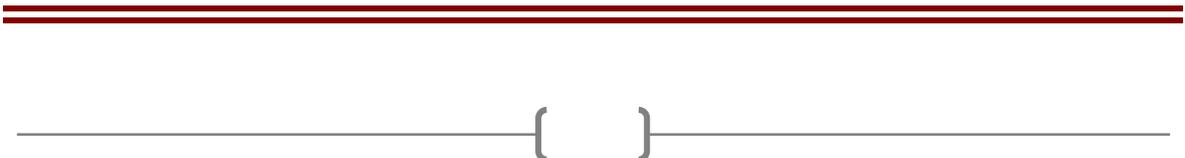
1.- Se identificaron los casos con tumor de Wilms del banco de pacientes existente en el servicio de Oncología pediátrica del Hospital de Pediatría CMN SXXI a quienes se les hizo el diagnóstico en el periodo comprendido de enero del 2009 a enero del 2014.

2.- Una vez seleccionados los casos de acuerdo a los criterios de inclusión se realizó el estudio de inmunohistoquímica con sistema peroxidasa-antiperoxidasa por un biólogo capacitado en la técnica de acuerdo a las recomendaciones de los proveedores.

3.-Se determinó por el método de inmunohistoquímica la expresión de p53, en los cortes obtenidos de los bloques de parafina de los pacientes con tumor de Wilms, dicho procedimiento se llevara a cabo por el personal de laboratorio de tumores del Hospital de Pediatría CMN Siglo XXI, incluyendo al tesista.

a) Se realizaron cortes de 3 a 4 μ m de tejido incluido en parafina, previamente fijado en formol amortiguado al 10%, utilizando porta objetos con poly-L lysina. (0.1% en agua destilada). El tejido fue desparafinado en la estufa a 56° C durante 30 minutos y rehidratado desde xilol hasta agua destilada pasando por alcoholes a concentraciones menores (5 minutos en cada uno de las soluciones). Posteriormente se efectuó la recuperación antigénica con DAKO target retrieval solución al 10% durante 10 minutos en olla express. Una vez que se enfrió (temperatura ambiente) se retiró del recuperador y se enjuagó con agua destilada ó PBS. La peroxidasa se bloqueó por 10 minutos con DAKO peroxidase blocking al 3% (se mantuvo cubierto para evitar el contacto con la luz) y se lavó con agua destilada ó PBS.

b) Los cortes se incubaron en cámara húmeda durante 20 minutos con los anticuerpos primarios: p53 (1:100 DAKO corporation, Carpinteria Ca. Anticuerpo monoclonal de ratón anti-P53 humano Clona DO-7 Isotipo Ig2B kappa. Código No. IR616/IS616).



c) El anticuerpo primario se detectó con un anticuerpo secundario biotinilado. Una vez aplicado, se incubó durante 30 minutos streptavidina conjugada (peroxidasa de rábano). Posteriormente se reveló con el cromógeno diamino-bencidina (DAB) por 5 minutos y finalmente se contrastó con hematoxilina.

d) El tejido se deshidrató con alcoholes de menor a mayor concentración (70%, 90% y 100%) y xilol. Las preparaciones se montaron con resinas.

En cada caso se incluirá un control positivo conocido, para p53, se utilizó carcinoma de mama. Cabe señalar que la calidad del tejido fue evaluado con la expresión del Ki-67, marcador que debe ser positivo en todos los nefroblastomas (tumor de Wilms) en menor o mayor grado. El espécimen que no salió positivo nos indicó la mala preservación del tejido, lo cual evitó tener falsos negativos.

4.- La evaluación de la expresión de p53 por inmunohistoquímica se realizó por un patólogo experto, semicuantitativamente contabilizando 100 células /campo de gran aumento (40x), se interpretaron y categorizaron las muestras con las siguientes puntuaciones, para la densidad:

-0: se asignó a menos del 5% de las células tumorales que expresan p53

-1: si 5% a 50% expresan p53

-2: si más del 50% es positivo para p53

Para evaluar la intensidad, se utilizó un método similar en el que una puntuación de:

-0: fué sinónimo de débil o tinción ausente

-1: fué de intensidad intermedia

-2: intensidad fuerte

5.-Se registraron los datos de interés de cada expediente clínico, a la hoja de recolección de datos, por el tesista.

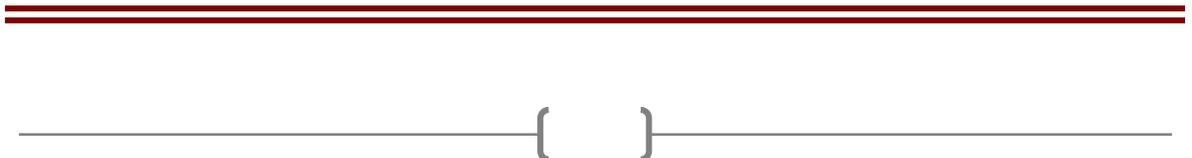
B) Cálculo de tamaño de muestra:

Se realizó el cálculo de tamaño de la muestra tomando en cuenta que el análisis fue hecho con una prueba de diferencia de proporciones dado que el estimado de la prevalencia de la enfermedad es del 6% se requiere estudiar al menos 33 pacientes.

C) Plan de análisis estadístico.

En un inicio se utilizó la estadística descriptiva, utilizando medidas de tendencia central (media, mediana y moda) y dispersión para variables cuantitativas (curvas de tendencia central).

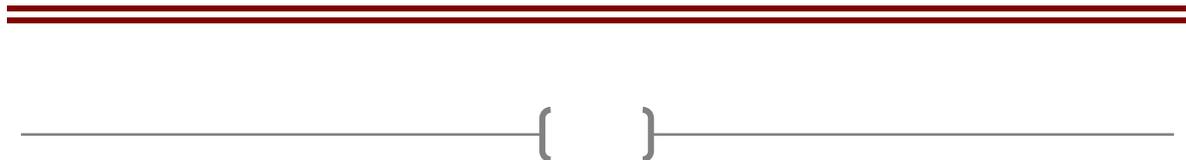
Para las variables nominales y ordinales se calcularon las frecuencias y en caso necesario los intervalos de confianza.



Se calculó el riesgo relativo o razón de riesgos (RR), para buscar asociaciones entre dos variables de carácter cualitativo (dicotómicas).

DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLE	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICIÓN	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	UNIDADES DE MEDICIÓN	CONTROL
Variable Histológica	Dependiente	Cualitativa ordinaria	Características de malignidad con la clasificación histopatológica		Blastemal Epitelial Trifásico Anaplasia	1 2 3 4



p53	Independiente	Cualitativa	Observación por inmunohistoquímica	Tinción de inmunohistoquímica de las muestras	Expresión p53 Densidad: -0: menos del 5% de las células tumorales que expresan p53 -1: 5% a 50% expresan p53 -2: más del 50% Para evaluar la intensidad, -0: es sinónimo de débil o tinción ausente + -1: es de intensidad intermedia ++ -2: intensidad fuerte +++	Observación por patología
Estadificación	Dependiente	Cualitativa Nominal	Grado de extensión de la enfermedad		EI: Tumor confinado al riñón EII: Tumor extenso más allá del riñón pero resecable EIII: Tumor residual micro o macroscópico, tumor inoperable o con márgenes positivos EIV: Metástasis hematógenas o ganglios positivos fuera del abdomen V: Tumor bilateral	



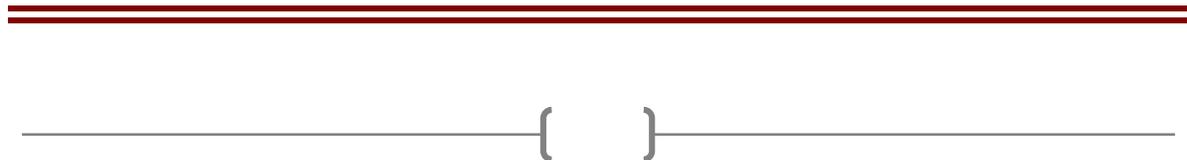
FACTIBILIDAD Y RECURSOS HUMANOS FISICOS Y FINANCIEROS

Recursos humanos:

Tesista médico residente de pediatría médica, tutor médico adscrito, asesor metodológico, médico patólogo, química y técnica en inmunohistoquímica

Recursos materiales:

Hojas blancas, lápices, computadora, impresora, reactivo para p53, paquete estadístico SPSS, equipo para realizar la técnica de inmunohistoquímica.

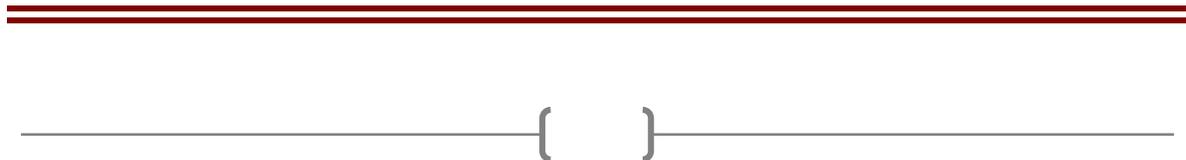


ASPECTOS ETICOS DE LA INVESTIGACION

El diseño y proceso de investigación estará supeditada al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y a los principios básicos para toda investigación médica de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (1964) y sus modificaciones en Venecia (1983), Hong Kong (1989) y Tokio (1995), Cumple con los principios éticos de investigación de justicia, beneficencia y autonomía

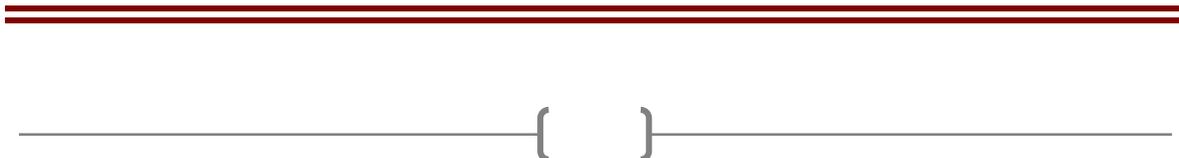
Según el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud este estudio se considera sin riesgo ya que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio. Al ser un estudio sin riesgo no se requiere consentimiento informado.

El presente estudio se realiza en base a lo establecido en la Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos: Artículo 4º publicado en el Diario Oficial de la Federación el día 6 de Abril de 1990.



ITEM	ACTIVIDAD	1				2				3				4				5				6			
		OCTUBRE 14				OCTUBRE 15				NOVIEMB RE15				DICIEMB RE5				ENERO 15				FEBRERO 15			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Delimitación del tema. Recolección y selección bibliográfica																								
2	Elaboración del protocolo																								
3	Envió a Comité Local de Investigación																								
4	Recolección de los datos y análisis de las muestras Por inmunohistoquímica.																								
5	Análisis de resultados																								
6	Informe y elaboración de tesis																								
7	Presentación de tesis																								

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES



RESULTADOS:

En este protocolo se encontraron 68 pacientes pediátricos con tumor de Wilms registrados en una base de datos, en un período de 5 años desde el 2009- 2014, hubo 32 casos con expediente clínico completo, de los cuales 9 no contaron con bloques de parafina para ser analizados. Tuvimos 23 casos que cumplieron con los criterios de inclusión. En los 23 casos estudiados se excluyeron 3 casos (15%) considerados como muestras no confiables, ya que el análisis histopatológico no fue posible realizarlo de manera adecuada debido a que se encontró tejido necrótico. Se registraron al final 20 casos.

Tabla 1: Número de pacientes con tumor de Wilms, estadios de la enfermedad y estirpe histológica, recaída y progresión de la enfermedad, y defunciones.

Variable		N° Casos=20	%
Sexo	Hombres	10	50
	Mujeres	10	50
Estadio	I	0	0
	II	3	15
	III	6	30
	IV	10	50
	V	1	5
Extirpe histológico	Blastemal	10	50
	Epitelial	5	25
	Rabdoide	4	20
Histología	Mesenquimal	1	5
	Favorable	18	90
	Desfavorable	2	10
Recaída	Si	4	20

Progresión	No	16	80
	Si	2	10
Vive	No	18	90
	Si	17	85
	No	3	15

De los 20 casos obtenidos con muestras confiables en nuestra población de estudio, hubo 10 niños (50%) y 10 niñas (50%). La mediana de edad al momento del diagnóstico fue de 30 meses. Con un promedio de evolución de la enfermedad desde el momento del diagnóstico hasta la actualidad de 1 año 6 meses. El tratamiento actual con quimioterapia se registro en 17 casos (85%) y quimioterapia más radioterapia en 13 casos (65%). Se registraron 3 defunciones (15%) asociadas a eventos de fiebre y neutropenia durante el período de estudio.

El estadio clínico de la enfermedad al momento del diagnóstico en nuestra población de estudio fue con mayor frecuencia el estadio IV con 10 casos (50%) 7 niñas (35%) y 3 niños (15%), con una mediana de edad de 44 meses al momento del diagnóstico, clínicamente en este grupo se encontró una masa abdominal palpable unilateral de predominio izquierdo en 7 casos (35%) con cadenas ganglionares afectadas principalmente en región inguinal. Los 10 casos encontrados en estadio IV recibieron tratamiento al inicio de la enfermedad con cirugía, quimioterapia y radioterapia; hubo 2 defunciones en este grupo.

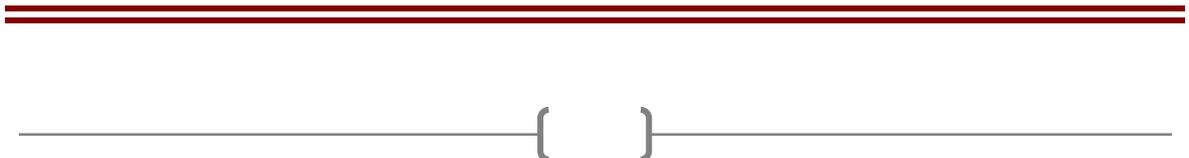
El siguiente estadio en orden de frecuencia de nuestra población de estudio, fue el estadio III con 6 casos (30%) al cual correspondieron 4 niños (20%) y 2 niñas (10%), con una mediana de edad de 33 meses al momento del diagnóstico, actualmente en tratamiento con quimioterapia.

En el estadio II hubo 3 casos (15%) con una mediana de edad de 21 meses al momento del diagnóstico, se registró una defunción, la cual se trató de un hombre de 2 años 5 meses de edad al momento del diagnóstico, de estirpe blastemal con histología favorable, que presentó recaída y progresión de la enfermedad.

El estadio V con un caso (5%), correspondió a un niño de 3.6 años de edad, con histología desfavorable de estirpe blastemal, clínicamente con afección renal bilateral, actualmente en tratamiento únicamente con quimioterapia. En estadio I no hubo casos registrados.

De los 4 tipos histológicos, la estirpe que predominó en nuestra población de estudio fue el tipo blastemal con reporte de 10 casos (50%), uno de éstos en estadio V. La estirpe epitelial con 5 casos (25%), rabdoide con 4 casos (20%) y mesenquimal con un solo caso (5%), éste último en estadio III de la enfermedad al momento del diagnóstico, con histología desfavorable.

En el estudio histopatológico se encontró la histología favorable y desfavorable asociada a anaplasia, considerando ésta última como de mal pronóstico para la sobrevida. Se describieron 18 casos (90%) con histología favorable, 10 mujeres (50%) y 8 hombres (40%). Hubo 2 casos (10%) con histología desfavorable.



La recaída de los pacientes con tumor de Wilms en estadios III, IV y V es 4 veces mayor que para el estadio II. En nuestra población de estudio se encontraron 4 casos (20%) con recaída.

Tabla 2: Expresión del marcador p53 mediante inmunohistoquímica y variables histológicas.

Variable	N=20		%
Expresión p53	Si	18	90
	No	2	10
Intensidad de expresión p53	Ausente	3	15
	Débil	4	20
	Intermedia	12	60
Expresión en % de p53	Fuerte	1	5
	0-5%	5	25
	>5-50%	7	35
	>50%	8	40

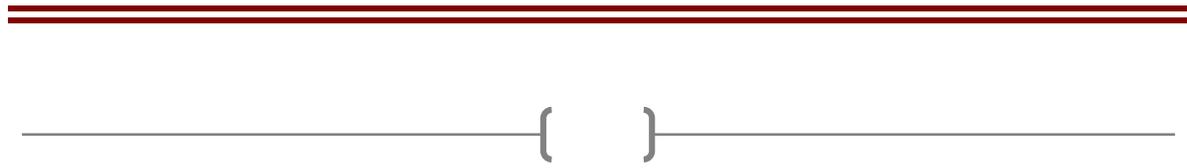
Tabla 2. Los datos obtenidos mediante el estudio histopatológico con la expresión del marcador p53 mediante la técnica de inmunohistoquímica, se observó en 18 casos (90%), 9 niños (50%) y 9 niñas (50%), con una mediana de edad de 33 meses al momento del diagnóstico, en éste grupo predominó la intensidad de expresión intermedia con 12 casos (60%), de los cuales 8 casos (40%) tuvieron expresión del gen p53 en más del 50%.

En 2 casos (10%) no hubo expresión del marcador p53, uno se trató de un niño de 3 años 8 meses de edad al momento del diagnóstico, en estadio IV, con histología favorable de estirpe mesenquimal, sin recaída ni progresión, que actualmente se encuentra en tratamiento con quimioterapia y radioterapia y con 5 meses de evolución.

Tablas de correlación de variables:

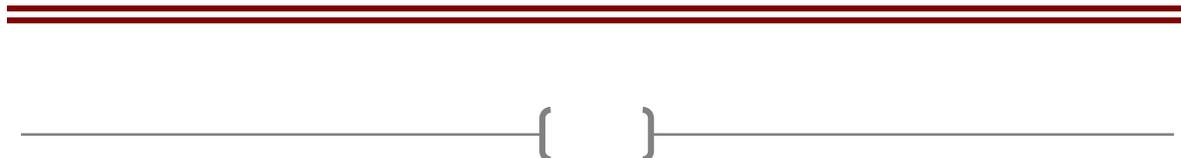
Tabla 3. Comparación de acuerdo a la expresión del marcador p53 mediante inmunohistoquímica con la histología, estirpe histológica y estadio clínico de los pacientes pediátricos con tumor de Wilms.

Histología	Expresión p53		
	Si N= 18	No N=2	P



	n (%)	n (%)	
Favorable N=18	16 (88.8)	2 (100)	0.61
Desfavorable N= 2	2 (11.1)	0	
Estirpe Histológica			
-Blastemal N=10	9 (50)	1 (50)	0.01
-Epitelial N= 5 -Rabdoide N= 4	5 (27.7)	0	
-Mesenquimal N=1	4 (22.2)	0	
	0	1 (50)	
Estadio clínico			
-Estadio I N =0	0	0	0.52
-Estadio II N= 3	3 (16.6)	0	
-Estadio III N= 6 -Estadio IV	5 (27.7)	1 (50)	
N= 10 -Estadio V	9 (50)	1 (50)	
N= 1	1 (5.5)	0	
Recaída			
Si N= 4	3 (16.6)	1 (50)	0.26
No N= 16	15 (83.3)	1 (50)	
Progresión			
Si N= 2	1 (5.5)	1 (50)	0.04
No N= 18	17 (94.4)	1 (50)	

En la tabla 3, se registraron 18 casos (100%) de los pacientes con tumor de Wilms que expresaron el marcador p53 mediante inmunohistoquímica, se encontraron 16 casos (88.8%) con histología favorable en donde predominó la estirpe blastemal con 9 casos



(50%) con un valor de $p=0.01$ estadísticamente significativo, es decir que el marcador p53 se expresa en todos los tipos histológicos predominando el tipo Blastemal. Clínicamente los pacientes que expresaron el marcador se encontraron con mayor frecuencia en estadio IV de la enfermedad. En los 2 casos que no tuvieron expresión de p53, uno presentó recaída con progresión del 50% y un valor de $p=0.04$ estadísticamente significativo asociado a un estadio IV con metástasis y defunción del paciente.

Tabla 4. Comparación de acuerdo a la intensidad de expresión del marcador p53 mediante inmunohistoquímica con la histología, estirpe histológica y estadio clínico de los pacientes pediátricos con tumor de Wilms:

Histología	Intensidad de expresión p53				Valor P
	Ausente N= 3	Débil N= 4	Intermedio N= 12	Fuerte N= 1	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
Favorable N=18	3 (100)	3 (75)	12 (100)	0	0.009
Desfavorable N= 2 Estirpe Histológica	0	1 (25)	0	1 (100)	
-Blastemal N=10	2 (66.6)	2 (50)	5 (41.6)	1 (100)	0.45
-Epitelial N= 5 - Rabdoide N= 4	0	1 (25)	4 (33.3)	0	
-Mesenquimal N=1	1 (33.3)	0	0	0	
Estadio clínico					
-Estadio I N=0	0	0	0	0	0.08
-Estadio II N= 3	0	1 (25)	2 (16.6)	0	
-Estadio III N= 6	1 (5)	2 (50)	3 (25)	0	
-Estadio IV N= 10	2 (66.6)	1 (25)	7 (58.3)	0	
-Estadio V N= 1	0	0	0	1 (100)	
Recaída					

Si N= 4	1 (33.3)	1 (25)	2 (16.6)	0	0.86
No N= 16	2 (66.6)	3 (75)	10 (83.3)	1 (100)	
Progresión					
Si N= 2	1 (33.3)	0	1 (8.3)	0	0.49
No N= 18	1 (33.3)	4 (100)	11 (91.6)	1 (100)	

En la tabla 4, se observó la expresión en la intensidad del marcador p53 mediante inmunohistoquímica en donde se encontraron los siguientes datos, 18 (90%) casos con histología favorable de los cuales 12 casos (66.6%) expresaron una intensidad intermedia, predominó la estirpe histológica de tipo blastemal en estadio IV al momento del diagnóstico. Así mismo se observó una asociación a recaída y progresión en un caso. De los 2 casos (100%) con histología desfavorable, uno de ellos presentó una intensidad de expresión fuerte, en estadio IV, asociado a recaída y progresión de la enfermedad.

Tabla 5. Comparación de acuerdo al porcentaje de expresión del marcador p53 mediante inmunohistoquímica con la histología, estirpe histológica y estadio clínico de los pacientes pediátricos con tumor de Wilms:

Histología	Porcentaje de expresión de p53			
	0-5% N= 5	5-50% N= 7	>50% N= 8	
	n (%)	n (%)	n (%)	
Favorable N=18	4 (80)	7 (100)	7 (87.5)	0.10
Desfavorable N= 2	1 (20)	0	1	
Estirpe Histológica				
-Blastemal N=10	2 (40)	4 (57.1)	4 (50)	0.10
-Epitelial N= 5	1 (20)	0	4 (50)	
-Rabdoide N= 4	1 (20)	3 (42.8)	0	

-Mesenquimal N=1	1 (20)	0	0	
Estadio clínico				
-Estadio I N=0	0	0	0	
-Estadio II N= 3	0	2 (28.5)	1 (12.5)	0.73
-Estadio III N= 6	2 (40)	2 (28.5)	2 (25)	
-Estadio IV N= 10	3 (60)	3 (37.5)	4 (57.1)	
-Estadio V N= 1	0	0	1 (12.5)	
Recaída				
Si N= 4	1 (20)	3 (42.8)	0	0.11
No N= 16	4 (80)	4 (57.1)	8 (100)	
Progresión				
Si N= 2	1 (20)	1 (14.2)	0	0.45
No N= 18	4 (80)	6 (85.7)	8 (100)	

El porcentaje de expresión se realizó con el puntaje señalado en la tabla anterior. En nuestra población de estudio se determinó por patólogo experto una expresión del marcador de p53 mayor al 50% en 7 casos (87.4%) en todos los casos con histología favorable, sin predominio de una estirpe histológica específica, pero las más frecuentes fueron la blastemal y epitelial con 4 casos (50%) en cada una, el estadio clínico más frecuente fue el IV con 4 casos (57.1%). Todos los casos con expresión mayor al 50% tuvieron recaída y progresión.

DISCUSIÓN:

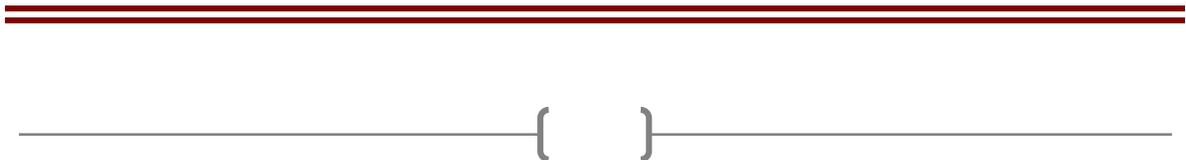
El tumor de Wilms (TW) es la neoplasia renal más frecuente en la edad pediátrica, en este estudio se analizaron 20 casos de pacientes con tumor de Wilms registrados en un período de 5 años, con una mediana de edad al momento del diagnóstico de 30 meses como se registra en la literatura a nivel internacional. No encontramos diferencias en el sexo masculino o femenino ya que se presentó en una relación 1:1.

Para las evaluaciones se tomaron en cuenta los estadios clínicos al momento del diagnóstico así como el análisis histopatológico en búsqueda de la expresión de p53 mediante inmunohistoquímica, considerando éste marcador como uno de los factores pronósticos de sobrevida en los últimos años.

En cuanto al estadio del tumor de Wilms se presentó con mayor frecuencia el tipo IV a diferencia de lo descrito en la literatura. Clínicamente éste tumor es generalmente asintomático y el primer signo diagnóstico es la presencia de masa abdominal hasta en el 75% de la población, en nuestro estudio los pacientes manifestaron la enfermedad con una masa abdominal palpable. El estadio V se presentó en un caso, es el menos frecuente correspondiendo a lo descrito en la literatura, que correspondió a un niño de 3.6 años de edad, con histología desfavorable de estirpe blastemal, clínicamente con afección renal bilateral, actualmente en tratamiento con quimioterapia.

La histología se determinó como favorable y desfavorable de acuerdo a la estirpe epitelial predominante, en nuestra población de estudio, se observó en la mayoría de los pacientes una histología favorable, con predominio de la estirpe histológica blastemal, seguida de la general. De la histología desfavorable pudimos observar que se presentó en estadios más avanzados de la enfermedad (III y V), era de esperarse que éstos casos tuvieran recaída y/o progresión de la enfermedad, los cuales no se presentaron; sin embargo consideramos que el tiempo de evolución en promedio de éstos pacientes es de 1 año 6 meses un tiempo corto para evaluar éstas características.

En nuestro estudio hubo una expresión del marcador p53 hasta del 90% de los pacientes, de éstos la intensidad intermedia se observó en la mayoría de los casos, con un porcentaje de expresión de p53 mayor al 50%. Se presentaron únicamente 2 casos en los cuales no



se expresó p53. De acuerdo a lo encontrado a nivel internacional los estudios realizados con este marcador sugieren la presencia del mismo en un 94%, como lo reportado por Lahotic y cols. quienes analizaron 20 pacientes con la técnica de inmunohistoquímica y reportaron la expresión en los 20 casos, los cuales se asociaron a mayor agresividad de la enfermedad.

En otro estudio Jan Franken, evidenció una puntuación más alta para la expresión de p53 por inmunohistoquímica, la cual correlacionó con una evolución clínica desfavorable en niños con tumor de Wilms significativa con $p=0.017$, además de predecir una peor supervivencia con una asociación significativa con la expresión del marcador con una $p=0.11$. En nuestro estudio se evidenció que la histología desfavorable se presentó en todos los casos que expresaron el marcador p53. En cuanto a la sobrevida debido al tiempo de evolución en el que se encuentran nuestros pacientes no fue posible determinarla.

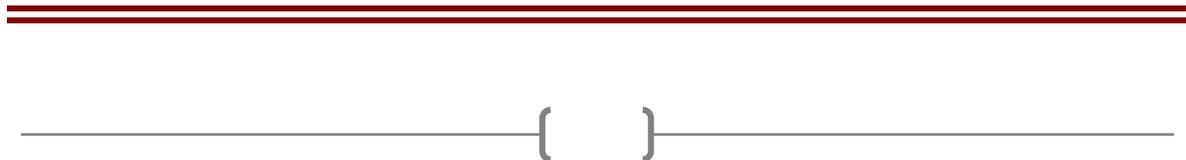
Hubo 3 defunciones las cuales se asociaron en 2 casos a la expresión de p53 tanto en intensidad como en porcentaje.

Las recaídas observadas en nuestro grupo de estudio se presentaron en su mayoría asociadas a progresión, éstas correspondieron a diferentes estadios de la enfermedad predominando el estadio IV y III, la expresión de p53 se presentó hasta en el 90% de los pacientes; con lo anterior podemos decir, que la expresión de p53, la histología, la estirpe histológica blastemal, los estadios clínicos avanzados (III-V) y las recaídas y progresión de la enfermedad, se encuentran fuertemente asociadas para determinar el mal pronóstico de la enfermedad.

CONCLUSIÓN:

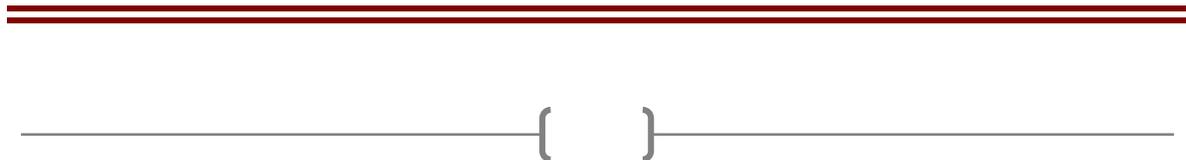
1.- Aún cuando la expresión de p53 en los pacientes con tumor de Wilms se considera como un marcador de mal pronóstico asociado a estadio más avanzado y agresividad de la enfermedad, en el presente estudio no se pudo comprobar, tomando en cuenta que en nuestra población de estudio el período de evolución de la enfermedad es insuficiente para determinar su pronóstico a largo plazo.

2.-Sería conveniente continuar la evaluación prospectiva de la evolución de nuestra población de estudio, para determinar si la expresión de p53 tanto en intensidad como en porcentaje, puede asociarse con recurrencia o con la sobrevida de los pacientes pediátricos con tumor de Wilms.



BIBLIOGRAFÍA

- 1.-Benítez BL, Quiñones SG. El cáncer. ¿Un problema de salud pública en México? Rev Med IMSS (Mex) 1991;29:195-213.
- 2.-Fajardo-Gutiérrez A, Mejía-Aranguré M, Gómez-Delgado A, et. al. Epidemiología de las neoplasias malignas en niños residentes en el Distrito Federal (1982-1991). Bol Med Hosp Infant Mex 1995;52:507-16.
- 3.-Green DM, D'Angio GJ, Beckwith JB. et. al. Principles and practice of pediatric oncology. 2nd ed. Philadelphia, PA, USA: JB Lippincott Company; 1993. p. 713-37.
- 4.-Danglot-Banck C, de la Rosa-Morales V, Gómez-Gómez M. et. al. Epidemiología del tumor de Wilms en la edad pediátrica. Bol Med Hosp Infant Mex 1996;53:202-8.
- 5.-Kaatsch P, Haaf G, Michaelis J. Childhood malignancies in Germany. Methods and results of a nationwide registry. Eur J Cancer 1995;31A:993-9.
- 6.-Gurney JG, Davis S, Severson RK. Trends in cancer incidence among children in the US. Cancer 1996;78: 532-41.
- 7.-Khanna G, Rosen N, Anderson JR, et al.: Evaluation of diagnostic performance of CT for detection of tumor thrombus in children with Wilms tumor: a report from the Children's Oncology Group. Pediatr Blood Cancer 58 (4): 551-5, 2012.



- 8.-Wilms' tumor: status report, 1990. By the National Wilms' Tumor Study Committee. *J Clin Oncol* 9 (5): 877-87, 1991.
- 9.-Perlman EJ: Pediatric renal tumors: practical updates for the pathologist. *Pediatr Dev Pathol* 8 (3): 320-38, 2005 May-Jun.
- 10.-Breslow NE, Collins AJ, Ritchey ML, et al.: End stage renal disease in patients with Wilms tumor: results from the National Wilms Tumor Study Group and the United States Renal Data System. *J Urol* 174 (5): 1972-5, 2005.
- 11.-D'Angio GJ, Breslow N, Beckwith JB, et al.: Treatment of Wilms' tumor. Results of the Third National Wilms' Tumor Study. *Cancer* 64 (2): 349-60, 1989.
- 12.-Jereb B, Burgers JM, Tournade MF, et al.: Radiotherapy in the SIOP (International Society of Pediatric Oncology) nephroblastoma studies: a review. *Med Pediatr Oncol* 22 (4): 221-7, 1994.
- 13.-Green DM: The treatment of stages I-IV favorable histology Wilms' tumor. *J Clin Oncol* 22 (8): 1366-72, 2004.
- 14.-Finlay CA, Hinds PW, Levine AJ. The p53 proto-oncogene can act as a suppressor of transformation. *Cell* 57: 1083-1093, 1989.
- 15.-Sigal A, Rotter V. Oncogenic mutations of the p53 tumor suppressor: the demons of the guardian of the genome. *Cancer Res* 60: 6788-6793, 2000.
- 16.-Perry ME, Levine AJ. Tumor suppressor p53 and the cell cycle. *Curr Opin Genet Devel* 1993;3:50.
- 17.-Pezella F, Micklem K, Turley H, et. al. Antibody for detecting p53 protein by immunohistochemistry in normal tissues. *J Clin Pathol* 1994, 47:592-96.
- 18.-Kusafuka T, Fuzukawa M, Oue T, et. al. Mutation analysis of the p53 gene in childhood malignant solid tumors. *J Pediat Surg* 1997;32:1175-80.
- 19.-Malkin D, Sexsmith E, Yeger H, et. al. Mutations of the p53 tumor suppressor gene occur infrequently in Wilms' tumor. *Cancer Res* 1994;54:2077-9.
- 20.-Bardeesy N, Falkoff D, Petruzzi M, et al. Anaplastic Wilms' tumor: a subtype displaying poor prognosis harbors p53 gene mutations. *Nature Genet* 1994;7:91-7.
- 21.-Chitra L, Paul T, David M, et al. Immunohistochemical Detection of p53 in Wilms' Tumors Correlates with Unfavorable Outcome. *American Journal of Pathology*, Vol. 148, No. 5, May 1996: 1577-1589.
-
-

22.-Farzaneh J, Delaram S, Mohammad R, et al. Immunohistochemical Detection of p53 Protein Expression as a Prognostic Factor in Wilms Tumor. Iranian Journal of Kidney Diseases. Volume 5, Number 3, May 2011: 149-153.

23.-Sredni St, De camargo B, et al. Immunohistochemical detection of p53 protein expression as a prognostic indicator in wilms tumor. Med Pediator Oncol 2001;37:455-8.

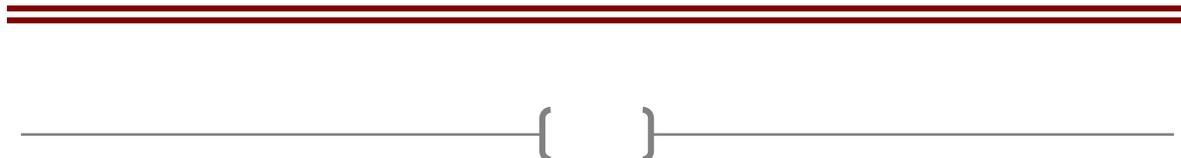
24.-Huang J, Soffer SZ, Kim eS, et al. p53 accumulation in favourable histology wt is associated with angiogenesis and clinically aggressive disease. J Pediator Surg 2002;37:5237.

25.-Das RN, Chatterjee U, Sinha SK, et al. Study of histopathological features and proliferation markers in cases of Wilms' tumor. Indian J Med Paediatr Oncol 2012;33:102-6.

ANEXO

HOJA RECOLECCION DE DATOS

Nombre	
Afiliación	
Edad	
Diagnóstico Histopatológico	
Fecha de Diagnósticos	



Localización de tumor			
Quimioterapia			
Radioterapia	Si	No	Gy
Fecha de recaída			
Fecha de progresion tumoral			
Fecha de última consulta			



_____ () _____