



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**PRESENCIA DE LA TRANSLOCACIÓN
t(11;19)(q11-13.4) EN HAMARTOMAS
MESENQUIMATOSOS Y SARCOMAS
EMBRIONARIOS HEPÁTICOS EN NIÑOS**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN:

PATOLOGÍA PEDIÁTRICA

P R E S E N T A

DR. CHRISTIAN SALVADOR VENEGAS LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOSÉ MARIO PÉREZ-PEÑA DÍAZ-CONTI



Ciudad de México, Febrero 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

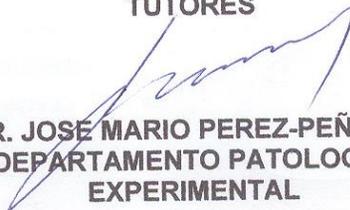
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

HOJA DE FIRMAS

**DRA. REBECA GÓMEZ CHICO VELASCO
DIRECTORA DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO**

TUTORES



**M EN C. DR. JOSÉ MARIO PEREZ-PEÑA DIAZ-CONTI
JEFE DEL DEPARTAMENTO PATOLOGIA CLINICA Y
EXPERIMENTAL**



**DRA EN C. MARÍA DEL PILAR EGUÍA AGUILAR
LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR
DEPARTAMENTO DE PATOLOGÍA CLÍNICA Y EXPERIMENTAL**

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

DEDICATORIAS

A mi madre y hermano por el estímulo y apoyo incondicional en todo momento,
por la inspiración para finalizar este proyecto

ÍNDICE

1. Resumen	5
2. Introducción	6
3. Antecedentes	6
4. Marco teórico	11
5. Planteamiento del problema	28
6. Pregunta de investigación	28
7. Justificación	29
8. Objetivos	29
9. Hipótesis	29
10. Métodos	30
11. Consideraciones éticas	34
12. Plan de análisis estadístico	34
13. Descripción de variables	35
14. Resultados finales	37
15. Discusión	47
16. Conclusión	47
17. Limitaciones del estudio	48
18. Cronograma de actividades	48
19. Referencias bibliográficas	49
20. Anexos	53

RESUMEN

El Hamartoma mesenquimatoso hepático (HMH) es un tumor benigno que se presenta en niños. En contraste, el Sarcoma indiferenciado embrionario (SIE) es un tumor altamente maligno y agresivo. En algunos casos, el HMH benigno puede evolucionar a SEI. Se desconoce el mecanismo de esta evolución inusual. Dada la malignidad y agresividad del SEI, es necesaria la identificación de las alteraciones moleculares que permitan predecir el comportamiento del HMH, pronóstico y su tratamiento. El objetivo de este estudio es determinar la translocación $t(11;19)(q11-q13.4)$ en el hamartoma mesenquimatoso hepático (HMH), sarcoma embrionario indiferenciado (SEI) y de la región de transición entre ambos a través de secuenciación del exoma y caracterizar las alteraciones en la expresión de los microRNAs del HMH, del SEI y de las zonas de transición. Metodología: A partir de biopsias fijadas en formol e incluidas en parafina se extraerá el RNA y DNA del HMH, del SEI y de la zona de transición. En cada caso, se obtendrá también tejido sano de la misma muestra de hígado. La detección de la translocación se determinará mediante secuenciación del exoma, mientras que, la expresión de los microRNAs se estudiará con microarreglos y serán analizados mediante mapas de calor y se utilizarán métodos de agrupamiento jerárquico no supervisado para identificar diferencias en la expresión entre grupos

INTRODUCCIÓN

El cáncer hepático es raro en niños, con solo 1.5 casos por millón de niños menores de 18 años en todo el mundo. La mayoría de los tumores hepáticos pediátricos son esporádicos, pero pueden estar asociados a síndromes de cáncer familiar, desordenes metabólicos y condiciones de predisposición, como es la extrema prematurez y el bajo peso al nacer. La rareza de estos tumores, aun en instituciones especializadas, hace su diagnóstico un reto para el patólogo general. El sarcoma más común de hígado en niños es el sarcoma embrionario, una neoplasia muy agresiva con un pico de incidencia entre 6 y 10 años. Algunos sarcomas embrionarios comparten el rearrreglo del cromosoma 19q13.4 y la translocación t(11;19) con el hamartoma mesenquimatoso, que usualmente afecta a infantes y niños en los primeros dos años de vida, y se considera un desorden de desarrollo. Sin embargo, la identificación de la misma translocación t(11;19)(q13;q13.4) en algunos casos ha demostrado una naturaleza neoplásica (1,2).

ANTECEDENTES

Los tumores hepáticos se presentan durante el periodo fetal o neonatal y se originan de diferentes tipos celulares por ejemplo: hepatocitos, epitelio de los conductos biliares, células neuroendocrinas y células mesenquimatosas. Los tumores mesenquimatosos pueden ser de tipo benigno o maligno. Dentro de los tumores benignos se encuentra el hamartoma mesenquimatoso hepático (HMH). Este tipo de tumor es raro en adultos, pero en niños ocupa el segundo lugar de frecuencia dentro de los tumores benignos de hígado. El 8% de los HMH se presentan dentro de los primeros 2 años de edad, mientras que el resto se detecta hasta los 5 años. Los HMH en su mayoría son masas poliquísticas grandes e indoloras que se localizan en la región abdominal. Aunque estos tumores son de tipo benigno y no presentan dolor, si el tumor es muy grande puede presentarse complicaciones como ascitis, ictericia y en algunas ocasiones insuficiencia congestiva, resultado de la compresión de órganos y tejidos adyacentes. Los

síntomas que se observan en estos pacientes son: anorexia, vomito, distensión abdominal y una pobre ganancia de peso. El tamaño de los HMH es muy variado, pueden medir desde unos cuantos centímetros hasta por arriba de los 30cm. El 75% ocurren en el lóbulo derecho, pocos en el lóbulo izquierdo y muy raras veces en ambos lóbulos. Una característica del HMH es la presencia de quistes con un rango de tamaño que va desde unos pocos milímetros hasta varios centímetros (usualmente de 4 a 7cm), que en su interior contienen un líquido entre claro y amarillo, y ocasionalmente con material gelatinoso. Frecuentemente, en la periferia del HMH se puede observar una capa delgada de parénquima normal del hígado. Normalmente, los estudios de laboratorio en pacientes con HMH revelan una función hepática normal y usualmente las pruebas para marcadores tumorales como α -fetoproteína, β -gonadotropina coriónica humana y ácido vanililmandélico son negativas, lo que dificulta su detección en etapas tempranas. El tratamiento para el HMH consiste en la resección completa del tumor, con el cual el pronóstico de los pacientes es muy bueno. Sin embargo, las complicaciones se presentan cuando el HMH, de tipo benigno, evoluciona a un sarcoma embrionario indiferenciado, un tumor hepático de tipo maligno.(1,2,4)

El SEI es el tercer, más común, tumor maligno de hígado en niños. Es una neoplasia rara, maligna y agresiva que comúnmente ocurre en niños, con un pico de incidencia entre los 6 y 10 años de edad, no tiene predilección de sexo y muy rara vez se presenta en adultos mayores de 40 años, mientras que la mayoría de los casos ocurre en pacientes mayores de 15 años. La presentación clínica del SEI es muy variada. El principal síntoma es la presencia de una masa localizada en el abdomen superior derecho o dolor epigástrico, también se presentan síntomas secundarios como: náusea, pérdida de peso, diarrea, vomito, letargo, constipación, anorexia, fiebre y dolor de cabeza. La fiebre usualmente se asocia con hemorragia y necrosis en el tumor. El SEI se presenta como una masa grande (mayor a 10 cm, al momento del diagnóstico) y heterogénea compuesta de áreas sólidas y quísticas, que puede aparecer en uno o ambos lóbulos, aunque en la mayoría de los casos se presenta en el lóbulo derecho. Su superficie tiene una

aparición heterogénea de color gris-blanco, en el que zonas sólidas y brillantes se alternan con quistes y áreas gelatinosas, y muy a menudo se observan áreas de color café oscuro (hemorragia) y de color amarillo (necrosis). En algunos casos se reporta una ruptura espontánea del tumor consecuencia de su rápido crecimiento. Al igual que en el HMH, no hay estudios de laboratorios específicos para detectar SEI y las pruebas de función hepáticas, así como marcadores tumorales dan usualmente normal en estos pacientes. Los pacientes con SEI presentan una supervivencia baja del 37%, el tratamiento inicial que reciben es la resección quirúrgica, sin embargo la recurrencia de este tumor es alta durante los primeros dos años posteriores a la cirugía.(2,4,5)

El SEI es un mesenquimoma altamente maligno y agresivo que comparte varias características clínicas y patológicas con el HMH. La transición del HMH a SEI es un fenómeno raro y poco estudiado. Begueret y col. en el 2001 reportaron el primer caso de una joven de 17 años con una masa hepática quística que tenía áreas características de un HMH y de un SEI, las cuales se encontraban separadas por una zona de transición que poseía la arquitectura característica de un HMH, pero con la presencia de células mesenquimatosas atípicas, características de un SEI. Al analizar las tres áreas por citometría de flujo el grupo de Begueret encontró 1) que las tres áreas tenían índices similares de DNA, sugiriendo un linaje común y 2) la presencia de aneuploidía (cambio en el número de cromosomas que pueden dar lugar a enfermedades genéticas), la cual es comúnmente asociada con tumores malignos. Posterior al estudio de Begueret, se fueron sumando otros reportes de casos similares en el que el SEI originaba del HMH, sugiriendo una conexión entre estos dos tumores. (3)

Actualmente se desconoce el mecanismo exacto de la tumorigénesis del HMH. Inicialmente se proponía que la lesión era resultado de anomalías en el desarrollo, obstrucción biliar o por alteraciones en el flujo sanguíneo. Posteriormente, gracias a estudios citogenéticos, en los casos previamente reportados, se demostró la presencia de translocaciones en el HMH, que involucraban la banda del

cromosoma 19q13.4, indicando un posible defecto genético. Las translocación que se ha observado con más frecuencia es la $t(11;19)(q13;q13.4)$, seguida de la translocación $t(11;19)(q13;q13.3)$, $t(15;18)(q15;q13.4)$, un rearrreglo complejo que involucra 11q2, 17p11 y 19q13.3, y una deleción intersticial del $(19)(q13.1q13.4)$. Después de la identificación de las translocaciones, las investigaciones que se han realizado se han enfocado en analizar los sitios de ruptura de la translocación $t(11;19)(q11;q13.4)$. En el 2007 Rajaram V y col. estudiaron la secuencia de DNA del punto de ruptura de la $t(11;19)$ en un SEI que había surgido de un HMH, encontrando que la ruptura ocurría en el gen *MALATI*, también conocido como ALPHA, el cual se encuentra sobre-expresado en un gran número de carcinomas humanos. A este punto de ruptura se le denominó región MHLBI, por sus siglas en inglés **M**esenchymal **H**amartoma of the **L**iver **B**reakpoint **I**. Hasta el momento los genes que se encuentran en la región MHLBI no se conocen, sin embargo el que varias sub secuencias de cDNA o EST (etiqueta de secuencia expresada) muestren homología con la familia del factor exportador de RNA nuclear (NXF, por sus siglas en inglés nuclear export factor), y que la región se encuentra conservada entre diferentes especies de mamíferos, sugiere que la ruptura ocurre dentro de una región codificante.(28,29,32)

Mathews J y col. en el 2013, utilizando secuenciación de segunda generación con el fin de obtener más información sobre los eventos genéticos de la tumorigénesis del HMH, estudiaron el loci (específicamente el gen *MALATI* en el cromosoma 11 y la región MHLB1 en el cromosoma 19) previamente reportada por Rajaram V y col. en el 2007. Este grupo de investigación encontró la presencia de rearrreglos cromosómicos que incluyen al locus MHLBI, la translocación $t(11,19)(q13.1;q13.42)$ que implica al gen *MALAT1*, la translocación $t(2,19)(q31.1;q13.42)$ que implica *AK023515*, un gen codificante no caracterizado; y la inversión $(19,19)(q13.42;q13.43)$ relacionada con el gen *PEG3*, que codifica una proteína dedo de zinc de tipo Kruppel. Es importante notar que estos reordenamientos los identificaron exclusivamente en tumores pediátricos. En adición, mediante PCR y FISH demostraron que estos arreglos se producen dentro de las células fusiformes

del componente lesionado y no en el componente epitelial, sugiriendo que el HMH representa un cambio genético somático y no una anomalía germinal. (28,29,30)

Los mecanismos que determinan la implicación de 19q13.4 en las translocaciones se desconocen, pero una característica de la región cromosómica, es la presencia de elementos con secuencias repetitivas. El locus MHLBI se encuentra dentro de la región C19MC (*Cromosoma 19 microRNA cluster*), la cual contiene una alta densidad (90%) de elementos repetitivos Alu (secuencias cortas de DNA que actúan como elementos transponibles o transposones) (Bortolin-Cavaille y col., 2009). Igualmente, AK023515 está enriquecido en repeticiones Alu, y MALATI está rodeado por áreas con una alta densidad de Alu, los cuales sirven como sitios de recombinación no homóloga. En adición, el locus MHLBI contiene una región rica en CpG, cuya metilación regula la expresión de genes de microRNAs (miRNAs). El gen C19MC en la banda del cromosoma 19q13.4 codifica para un cluster de 46 miRNAs. Por lo que, un rearrreglo que interrumpa a este elemento regulatorio, podría contribuir importantemente en la tumorigénesis del HMH, a través de la alteración de la expresión de los microRNAs. (35, 36,37)

Los miRNAs son pequeñas moléculas de RNA no codificante, de una sola banda, con un tamaño de aproximadamente 19-25nt, que son transcritos durante el desarrollo y, de una manera tejido-específico, durante la embriogénesis. Se han identificado más de 1500 miRNAs maduros en humanos, los cuales se encuentran altamente conservados entre especies. Los miRNAs se encargan de controlar la expresión génica, mediante el silenciamiento post-transduccional de genes, al unirse a secuencias complementarias de la región 3'UTRs (3'untranslated regions) del RNAm (RNA mensajero) blanco, a través de su secuencia semilla (2-8nt en 5'UTR), resultando en la inhibición de la traducción o en la degradación transcripcional del RNAm. La expresión de más del 60% de los genes que codifican para proteínas, en humanos, es controlada por los miRNAs. En el cáncer se ha observado que los niveles de expresión de algunos miRNAs se encuentran

aumentados o disminuidos, promoviendo la proliferación, metástasis, pérdida de diferenciación y disminución de la apoptosis. (38,39,40)

Tomando en cuenta la poca, pero valiosa información con la que se cuenta hasta el momento sobre la tumorigénesis del HMH, consideramos que es de suma importancia buscar a través de la secuenciación de segunda generación las mutaciones presentes, no solo en la región de ruptura como lo analizó el grupo de Mathews J, sino también en el transcriptoma; así como estudiar la expresión de los miRNAs que muy seguramente se encuentran estrechamente relacionados con la conversión HMH a SEI.

MARCO TEÓRICO

El manejo de los niños con tumores hepáticos puede ser un reto y puede requerir con trabajo completo por los síntomas y concepto de malignidad. La evolución inicial debe ser enfocada a la historia del paciente, evaluación prenatal, semana de gestación al nacimiento, peso y hallazgos del examen físico. Diagnóstico por imagen puede facilitar la identificación de benigno y maligno en tumores hepáticos, sin embargo la biopsia o resección para el diagnóstico histológico es necesaria. Algunos de estas neoplasias infantiles hepáticas son altamente vascularizadas y con intervención quirúrgica tienen un alto riesgo de sangrado. Algunos marcadores tumores pueden ser de utilidad en el inicio del diagnóstico y evaluación de la respuesta terapéutica. Niveles de alfa feto proteína pueden estar elevados en infantes mayores de 6 meses de edad y puede estar levemente elevado en tumores benignos y daño hepático o regeneración. La terapia debe ser acorde a la naturaleza de la lesión. La observación es recomendada en hemangioma hepático

asintomático, la resección quirúrgica completa es el tratamiento del hepatoblastoma. Tumores hepáticos benignos primarios descritos en la infancia incluye hemangioma, hiperplasia nodular focal y hamartoma mesenquimatoso. El adenoma hepático es una enfermedad casi exclusiva de niños grandes. Las lesiones malignas incluyen hepatoblastoma, rhabdomyosarcoma de tracto biliar, angiosarcoma, tumor rabdoide, sarcoma embrional, metástasis neuroblastoma y linfoma. Hacer el diagnóstico de tumor benigno o maligno no es un mayor problema para el patólogo, especialmente cuando el diagnóstico es hecho en un espécimen de resección. Sin embargo, las dificultades puede aparecen en muestras de biopsias pequeñas o en cuando es necesario distinguir procesos reactivos y tumores benignos o malignos del mismo tipo de celular. En estos casos es importante conocer los criterios definitivos para hacer un diagnóstico y comprender las características inherentes.(6,7,8,9)

El hamartoma mesenquimatoso hepático es un tumor benigno poco común en la niñez. Es un crecimiento hamartomatoso de tejido mesenquimal, ductos biliares, cordones hepáticos, y vasos sanguíneos en el hígado. Es considerada una malformación del desarrollo embrionario del hígado más que una verdadera neoplasia. Fue descrita por Maresch en 1903 quien lo llamo linfangioma hepático, después se llamó tumor mesenquimal pseudoquistico, fibroadenoma de células buliares, tumor cavernomatoso linfangiomatoide, linfangioma de células gigantes, hamartoma quístico. Como hamartoma mesenquimatoso fue descrito a detalle en 1956 por Edmoston, al observar que tenía similitud histopatológica con estructuras quísticas hepáticas en medio de un estroma de tejido mesenquimatoso laxo, adenomatoso, conductos biliares, estructuras vasculares y grupos de hepatocitos; mostrando además focos de hematopoyesis extramedular. Es un tumor infrecuente, representa aproximadamente del 5 al 8% de todos los tumores hepáticos y es el segundo más común en incidencia solo después del hepatoblastoma cuando solo tumores hepáticos en la infancia son considerados, y entre el 15 a 30% de las lesiones hepáticas benignas de niños. Es más frecuente en hombres que en mujeres en relación 3:2, sin predilección de raza. El 80% son encontrados en los primeros dos años de vida, es muy raro en recién nacidos, con

un pico de incidencia entre los 15 a 20 meses de vida, el resto son detectados para los 5 años. Raros casos han sido reportados en adultos. (7,8,9)

Los síntomas del hamartoma mesenquimatoso dependen de la edad del paciente, tamaño del tumor y ritmo de crecimiento. Los pacientes típicamente se presentaran con distensión abdominal progresiva, masa abdominal no dolorosa de crecimiento lento. Otros síntomas, como las náuseas y vómito, dificultad respiratoria, oclusión intestinal, o falla cardiaca congestiva, son por compresión de la masa tumoral que rodea estructuras y son menos comunes. Si la masa es muy grande, las complicaciones incluyendo ascitis, ictericia, y hasta falla renal congestiva puede ocurrir. A veces, pacientes pueden experimentar fiebre, anorexia y pérdida de peso. Ocasionalmente, la masa se expandirá rápidamente, mayormente por rápida acumulación de fluido en los espacios quísticos. (7,10)

No se especifica panel de pruebas de laboratorio que sean características de hamartoma mesenquimatoso. Los estudios de laboratorio habitualmente revelan pruebas de función hepática normales y varios marcadores tumorales, incluyendo gonadotropina coriónica humana beta, alfa feto proteína, y ácido vanililmandelico, son usualmente negativos. Enzimas hepáticas, incluyendo alanina aminotransaminasa, aspartato aminotransaminasa, tranferasa gamma-glutamilo, y fosfatasa alcalina, los rangos son de normales a marcadamente elevados. Ultrasonido abdominal puede demostrar a una masa multiquística o sólida. Sin embargo no se requiere para diagnóstico, tomografía por computadora y resonancia magnética son útiles para planeación de cirugía.(7,11)

Hamartoma mesenquimatoso intrauterino ha sido bien documentado en varios reportes. Fueron diagnosticados en el tercer trimestre. Son detectados por ultrasonografía como una masa hipoecogenica en el hígado, y es frecuentemente mal diagnosticada clínicamente como un quiste hepático o un tumor maligno por su apariencia quística. En el periodo prenatal, los tumores quístico crecen rápidamente provocando el descenso de la producción de albumina fetal y un alto riesgo de hidrops, obstrucción intestinal y consecuentemente polihidramnios, o elevación del diafragma y riesgo de hipoplasia pulmonar. La muerte intrauterina

se debe típicamente a efecto de masa de este tumor. Estructuras adyacentes como corazón, pulmón, riñones, y grandes vasos son comprimidos y ocurre la falla orgánica. Simultáneamente, las venas umbilicales pueden mostrar aneurisma dilatada por la compresión distal. Por el desplazamiento de órganos internos y compresión de la vena cava inferior y vena umbilical, el feto tiene riesgo de nacimiento prematuro, pobre comienzo o falla cardíaca congestiva. El índice de mortalidad es del 35%, realizar cesaría es preferible cuando el tumor es grande, para evitar distocias o ruptura traumática del quiste con consecuencias fatales. (7,25)

Los hamartomas mesenquimatosos varían mucho de tamaño, desde algunos centímetros hasta los 30 cm². Estos tumores pueden ser habitualmente masas que pesan más de 1 kg, o representar más del 15% de masa corporal del niño. El tumor puede surgir de la superficie del hígado bien demarcado pero no encapsulado o puede ser pediculado, es usualmente solido o un nódulo solitario multiquístico. Setenta y cinco por ciento ocurre en el lado derecho pocos ocurren en el izquierdo, y raramente ambos lóbulos están involucrados. Tiene áreas solidas son de color gris o rosas. Múltiples quistes desde algunos milímetros a varios centímetros son característicos, usualmente en el rango de 4 a 7 cm. Los quistes contienen fluido claro a amarillo, y ocasionalmente material gelatinoso está presente. Una capa delgada de parénquima hepático normal es frecuentemente verla en la periferia.(6,7,8,9)

Microscópicamente, el hamartoma mesenquimatoso consiste en tejido conectivo mixomatoso conteniendo de forma dispersa células mesenquimales estrelladas cohesivas, células parecidas a los miofibroblastos. Ductos biliares similares a placas ductales malformadas están usualmente presentes mezcladas y están rodeadas por tejido mesenquimal. Los quistes habitualmente no tienen recubrimiento epitelial y aparentemente envueltos por el tejido mesenquimal. Hematopoyesis extramedular se observa en aproximadamente en el 85% de los casos. Hepatocitos pueden estar presentes como cordones simples o grupos pequeños, especialmente en la periferia de la lesión. Vasos sanguíneos y linfáticos

dilatados. Sin mitosis atípicas, células atípicas e invasión al parénquima hepático adyacente. (7,8,9,10)

En niños mayores se ha reportado en la literatura, se asemeja a una lesión maligna desde el punto de vista clínico, caracterizada por hallazgos histológicos inusuales: un estroma mixoide prominente, con componente ductal mínimo, y ausencia de espacios quístico. Se tiene la hipótesis de que la variación morfológica puede estar relacionada a un estado de diferenciación evolutivo de la célula de origen. Para apoyar esta hipótesis, se ha estudiad la presencia del componente del enlace Notch afuera u dentro de la lesión. La ausencia dentro del tumor, y en contraste, la expresión de Notch2 y HES1 con sobreexpresión de ductos biliares puede no solo explicar la falta de conductos biliares, pero también indica un fenotipo distinto comparado con el clásico, el cual muestra más ductos biliares y trabéculas de hepatocitos en la matriz mesenquimal.(5,7,10,27)

Aun con el carácter benigno de este tumor, se dice que el hamartoma mesenquimaso puede ser una lesión precursora de sarcoma embrional por compartir aberraciones genéticas similares. A pesar que es raro, la transformación maligna a sarcoma embrional ha sido reportada. Teniendo áreas características de ambos sarcoma embrionario y hamartoma mesenquimatoso. Entre las dos distintas áreas esta una zona de transición que contiene arquitectura característica de hamartoma mesenquimal pero con células mesenquimales atípicas de un sarcoma embrional. El análisis de citometria de flujo de ADN anuploido muestra que todas las tres áreas tienen un AND similar que sugiere un linaje común. (4,7,9,25)

La patogénesis del hamartoma mesenquimatoso aún es debatida, no está completamente explicada, y hay algunas teorías que apuntan a anomalías del desarrollo, isquemia regional, obstrucción biliar como posibles causas. Muchas series han mostrado una asociación con hiperplasia vellosa mesenquimal de la placenta. La hiperplasia tallo vellosa mesenquimal está caracterizada por edema difuso en el tallo vellosa con preservación de la terminal vellosa. Habitualmente ese tallo vellosa contiene áreas de vasos con engrosamiento de la muscular. La

imagen histológica es similar a una mola hidatidiforme parcial pero sin la proliferación trofoblástica. Sin embargo estas dos entidades están de algún modo relacionadas está en cuestionamiento, pero la hipótesis de que surgen del desarrollo mesodérmico anormal sincrónico en lugar de una verdadera anomalía del desarrollo está ganando aceptación. También frecuentemente, anomalías de la placenta como delgadez, agrandamiento multiquístico de la placenta están asociadas a hamartoma mesenquimatoso.(6,7,9,11)

Se ha reportado un balance en la translocación entre el brazo largo del cromosoma 11 y el cromosoma 19. Se ha demostrado un punto de quiebre en 19q13.4, en anomalías del cariotipo. El componente transformado tiene el punto de quiebre en 19q13.4 en conjunto con otras anomalías numéricas y estructurales del cromosoma. Los análisis citogenéticos describen aberraciones involucradas en la región del cromosoma 19q13.4, como las translocaciones t(11;19) (q13;q13.4), t(11;19)(q13;q13.3), y t(15;19) (q15;q13.4), como la deleción intersticial del 18 (q13.1q13.4) y rearrreglos complejos relaciones 11q2, 17q11, y 19q13.3. (28,29, 32)

El hamartoma mesenquimatoso como un tumor benigno, se recomienda el tratamiento quirúrgico como suficiente, consiste en la resección completa o lobectomía, tradicionalmente ha sido el tratamiento de elección en el periodo post parto, sin embargo, técnicas menos invasivas, como laparoscopia exploratoria también ha sido usadas con éxito. Por la naturaleza del curso de este tumor que es de rápido crecimiento en tamaño y subsecuentemente disminuye de tamaño, algunos optan por vigilancia expectante en pacientes asintomáticos. Sin embargo, la recurrencia en lesiones benignas es posible. Las complicaciones después de la resección son hemorragia, arresto cardíaco y problemas pulmonares incluyendo síndrome de distress respiratorio han sido descritos con una mortalidad arriba del 1.7%. (2,7,8,10)

El diagnóstico de hamartoma mesenquimatoso es generalmente basado abordaje clínico y estudios de imagen, seguido de la confirmación por biopsia. Ultrasonido convencional es ya bien conocido, relativamente de bajo costo, y un método de

imagen no invasivo que es accesible y fácil de realizar en consideración con la edad joven de los pacientes. Tomografía por computadora abdominal e imagen por resonancia magnética son usadas en segunda línea de examinación, se usan para ver la vascularidad y que estructuras rodea la lesión en el estudio preoperatorio. Los estudios de ultrasonografía muestran estructura voluminosa, bien delimitada, masa hepática de redonda a oval, con estructuras heterologas como componentes sólidos y quísticos. Está compuesto por quistes anecoicos de varios tamaños, con un septo delgado interior y pared delgada, partes solidas mixtas, poco o nada de vascularización en el análisis de doppler de color. Hacer el diagnostico por biopsia por aguja fina puede ser difícil si no se acerca a la lesión. Si la muestra es hipocelular, lo que no es poco común en el hamartoma mesenquimatoso, la dificultad en el diagnostico puede estar comprometida nidos de ductos biliares normales y hepatocitos entremezclados con células mesenquimales cohesivas en un fondo mixoide es altamente sugestivo de hamartoma mesenquimatoso.(4,7,9,11)

Las masas pediátricas incluyen neoplasias y proliferaciones no neoplásicas, al igual que etiologías infecciosas. Radiográficamente, el diagnostico diferencia incluye hepatoblastoma, sarcoma embrional, hemangioma, hemangioendotelioma infantil, y enfermedad hidátide hepática. Todas estas entidades pueden tener variedad de formas tanto sólida como quística. El diagnostico preoperatorio mas preciso puede ser a base de biopsia por aguja percutánea, para distinguir entre hepatoblastoma, carcinoma hepatocelular, hemangioendotelioma, sarcoma indiferenciado, tumores de musculo liso, y pseudo tumor inflamatorio. El hepatoblastoma y hemangioendotelioma tienen el mismo rango de edad de pacientes pero usualmente son tumores sólidos. Quiste simple es inusual en niños y aparece como quiste uniloculado. Puede ser difícil diferenciarlo del cistaadenoma biliar y quiste parasítico, pero estas lesiones hepáticas rara vez afectan a pacientes pediátricos.(6,7,27)

La inmunohistoquímica es usada primariamente para descartar otras entidades. En el hamartoma mesenquimatoso, los ductos biliares y hepatocitos son

citoqueratinas positivo, en cambio el mesénquima y pseudoquistes son vimentina positivo. Hemangioendotelioma infantil mixoide se puede parecer, pero el endotelio engrosado de la lesión es positivo para las reacciones de inmunohistoquímica, el antígeno relacionado con el factor VIII, CD31, y CD34. Sin embargo una proliferación vascular localizada puede expresar similar. De los patrones histológicos diferenciales del hepatoblastoma, el hepatoblastoma mixto epitelial-mesenquimal es el más similar. Este tipo en particular está compuesto por hepatocitos cohesivos (tipo fetal) con mesénquima fusiforme/estrellado, es muy celular y puede contener fragmentos de osteoide o cartilago. Usando reacción de inmunohistoquímica para el diagnóstico diferencial puede ser malinterpretado, las células epiteliales tipo fetales son positivas para CK8, CK18 y los hepatocitos son hep par 1 positivos, y el componente mesenquimal es fuertemente positivo para vimentina. Para distinguirlo del sarcoma embrional es en la identificación de células estelares pleomorfas atípicas que son frecuentemente puestas en un fondo hemorrágico y/o necrosis. Estas células tumorales y el estroma ocasionalmente, son ácido periódico de Schiff positivo y diastasa resistente los glóbulos hialinos similares a los observados en el tumor de saco vitelino pueden estar presentes. En contraste el hamartoma mesenquimatoso, su componente epitelial es ausente en el sarcoma embrionario. (7,11,25)

El término sarcoma embrional indiferenciado del hígado fue introducido por Stocker y Ishak en 1978 para describir un grupo de tumores mesenquimales en el hígado que no mostraban evidencia de diferenciación. Este es un tumor maligno posiblemente de origen mesenquimatoso, de crecimiento rápido. La entidad ocurre mayormente en niños entre 6 y 10 años de edad, sin predominio de sexo o raza/etnia. Es el tercer tumor maligno primario más común después del hepatoblastoma y el carcinoma hepatocelular en esta población de pacientes. Corresponde del 9 - 15% de los tumores hepáticos malignos en niños y es el tercer tumor sólido maligno más común en niños después del tumor de Wilms, y el neuroblastoma. Sin embargo es raro, el sarcoma embrional ha sido reportado en pacientes adultos, con predominio en mujeres. A pesar de su naturaleza agresiva, el sarcoma embrional es una enfermedad potencialmente tratable con manejo

multidisciplinario y terapia de soporte. El diagnóstico temprano es la clave para incrementar las oportunidades de supervivencia a largo término. Sin embargo, el diagnóstico es a veces un reto por sus características epidemiológicas, clínicas, y hallazgos radiológicos que también se presentan en otros tumores hepáticos. (8,14,18)

Pacientes con sarcoma embrional usualmente presentan masa abdominal con o sin dolor abdominal, principalmente a expensas de lóbulo derecho. Síntomas secundarios como fiebre, pérdida de peso, anorexia, vómito, diarrea, letargo, constipación, y distress respiratorio también se pueden ver. La fiebre usualmente está asociada con hemorragia y necrosis identificada en el tumor. La ruptura espontánea de la lesión en la cavidad abdominal por el rápido crecimiento también ha sido reportada. (12, 16, 19)

Ningún hallazgo específico de laboratorio está asociado con sarcoma embrional. Pruebas de función hepática y marcadores neoplásicos usualmente están normales en estos pacientes. Sin embargo, no es infrecuente ver elevación leve de los niveles de transaminasas e índice de sedimentación eritrocitos, leucocitosis, o leucopenia. Además, casos raros con incremento de los niveles de alfa feto proteína y antígeno 125 de cáncer han sido reportados. (8, 13, 17)

Los hallazgos radiológicos del sarcoma embrional, también son inespecíficos, ultrasonografía usualmente muestra una masa grande con componentes mixtos sólidos y quísticos. El sarcoma embrional del hígado es habitualmente descartado por lesiones hepáticas benignas quísticas por la apariencia quística. Tomografía por computadora habitualmente revela una masa grande hipodensa con múltiples tabiques. La resonancia magnética es de ayuda en la planeación de la cirugía por que detecta invasión vascular, obstrucción biliar, y adenopatía hilar. Todos los patrones avasculares, hipovasculares, y de morfología hipervasculares se han visto en la angiografía. Los estudios de imagen son relativamente inespecíficos, muestran lesión generalmente mayor de 10 cm. (12,16,18)

El sarcoma embrional de hígado usualmente ocurre como una lesión macroscópica única y bien circunscrita. La delimitación aparentemente es creada por una pseudocapsula fibrosa, que se forma por parénquima hepático comprimido. También se puede encontrar en cualquier lóbulo o lóbulos bilaterales simultáneamente, la mayoría de las lesiones son vistas en el lóbulo derecho del hígado. El tumor es habitualmente único grande como 10 a 30 cm al momento del diagnóstico, y es considerado por dos componentes sólido y quístico. Al corte revela apariencia heterogenea gris-blanco, tumor solido brillante con quistes. Además, áreas café oscuro de hemorragia y amarillas, áreas blandas de necrosis son observadas macroscópicamente. (12, 13, 17)

Microscópicamente, la pseudocapsula separa la lesión del parénquima hepático que la rodea. Cordones y nidos de hepatocitos son comúnmente observados en la pseudocapsula y a la periferia del margen de la lesión. El componente solido del sarcoma embrional aparece sarcomatoide con un fondo mixoide. La célula es fusiforme o forma estrellada con nucléolo inconspicuo y bordes celulares definidos. Células multinucleadas y células bizarras con núcleo hiper cromático son observadas entre las células sarcomatoides. Numerosas figuras de mitosis son fácilmente identificadas en todo el tumor. Característicamente, glóbulos eosinofílicos se observan en el citoplasma de las células tumorales y en la matriz extracelular. Estos glóbulos son ácido periódico de Schiff positivos y resistentes a la diastasa digestiva. Hasta en 50% de los casos hay hematopoyesis extramedular.(8, 13, 19)

La mayoría de los estudios ultra estructurales del sarcoma embrional muestran diferenciación fibroblástica o fibrohistiocítica. La consistencia de los hallazgos encontrados en la microscopia electrónica se debe a la dilatación de la cisterna del retículo endoplásmico rugoso y cuerpos electros densos prominentes. Estos complejos electro densos corresponden a los glóbulos hialinos observados histológicamente. Diferenciación lipoblastica y miogenica también se ha descrito. La diferenciación lipoblastica se sospecha que es por vacuolas de lípidos del citoplasma que en el microscopio electrónico y hallazgos histológicos de las

células aparentan lipoblastos. La diferenciación miogénica, caracterizada por haces de miofilamentos, se ha reportado en algunos pacientes mayores. (12, 16, 17)

Muchos estudios han demostrado que el sarcoma embrional no tiene un inmunofenotipo específico. La expresión variable de histiocitos, músculo, y marcadores epiteliales es sospecha que el origen de la lesión sea por células madres primitivas. La mayoría de los casos son positivos para vimentina, desmina, CD86, CD20, alfa 1 antitriplicina, y CD10. Glipican 3, conocido por ser marcador diagnóstico para hepatoblastoma y carcinoma hepatocelular, recientemente se demostró que es positivo en sarcoma embrional. También, GPC3 expresa y no es un marcador para diferenciar sarcoma embrional de hepatoblastoma y carcinoma hepatocelular. Sin embargo, parafin hepatocito 1, miogenina, CD34, C-kit, surfactante, ALK-1, y S100 son negativos en la mayoría de los casos. (12, 16, 18)

Marcadores individuales no son habitualmente de ayuda para diferenciar sarcoma embrional de otros tumores hepáticos. Sin embargo, múltiples inmunoreacciones son usualmente realizadas para ayudar con el diagnóstico. En la práctica, los marcadores negativos son valiosos para hacer el diagnóstico diferencial. Hepatoblastoma y carcinoma hepatocelular son comúnmente positivos para parafin hepatocito 1 anticuerpo. Miogenina es usualmente positiva para rhabdomyosarcoma embrionario CD34 positivo es observado en tumor fibroso solitario y neoplasias vasculares. Tumor del estroma gastrointestinal es positivo para ambas C-kit y CD34. Expresión positiva nuclear de C-kit en muchos casos de sarcoma embrional se ha descrito. Es importante diferenciar este hallazgo de la expresión citoplasmática en el tumor del estroma gastrointestinal. ALK-1 es positivo en linfoma de células grandes anaplásico y pseudotumor inflamatorio. Finalmente, expresión negativa de S100 y melanina es de ayuda en la exclusión de melanoma y tumores neurales. (8, 14, 17)

Los paneles extensos de marcadores de inmunohistoquímica son de ayuda en el diagnóstico de sarcoma embrional. Sin embargo, los anticuerpos seleccionados han de ser basados en la información demográfica, historia clínica, y hallazgos

histológicos. Por la inespecificidad inmunofenotípica, se recomiendan al menos dos o tres anticuerpos comunes positivos para confirmar el diagnóstico de sarcoma embrional, en adición de los marcadores que son necesarios para el diagnóstico diferencial. (8, 16, 19)

El concepto del origen mesenquimal en sarcoma embrional es generalmente aceptado, a pesar de su evidente histogénesis obscura. Muchos grupos, han propuesto la posibilidad del vínculo entre sarcoma embrional y hamartoma mesenquimatoso. El sarcoma embrional de hígado es habitual considerarlo una evolución maligna del hamartoma mesenquimatoso. Se ha demostrado que la alteración del cromosoma 19 en sarcoma embrional también se muestra en el hamartoma mesenquimatoso. Estos hallazgos sugieren la asociación entre estas dos entidades por la involucración de la translocación en el brazo largo del cromosoma 19 (19q13.4) que se ha reportado en casos de hamartoma mesenquimatoso.(12, 14,19)

El sarcoma embrional de hígado tiene una lista exhausta de diagnóstico diferenciales. La edad del paciente es de ayuda en el descarte de diagnósticos diferenciales porque las lesiones hepáticas ocurren en distintos grupos de edad. El mayor diagnóstico diferencial del sarcoma embrional en la edad pediátrica es el hamartoma mesenquimatoso, hepatoblastoma, rabdomiosarcoma embrionario de árbol biliar variantes del carcinoma hepatocelular, tumor del estroma gastrointestinal, angioliipoma, leiomiomasarcoma, liposarcoma, angiosarcoma, hemangioendotelioma epiteliode, y melanoma maligno son más comunes en adultos. (8, 16, 18)

El hepatoblastoma es el tumor maligno hepático más común de la niñez. La edad media al diagnóstico es a los 19 meses. Como un tumor embrional de hígado, tiene características histológicas pueden asemejar varios estados del desarrollo hepático. Distinguiéndose el sarcoma embrional del hepatoblastoma es usualmente no difícil con la base de esta característica apariencia histológica e inmunofenotípica. Hamartoma mesenquimatoso es el segundo tumor hepático benigno más común en la población pediátrica después del hemangioma infantil.

Se manifiesta en niños menores de dos años, con predominio en hombres. Histológicamente, esta lesión tiene dos componentes epiteliales y estromal. El componente epitelial consisten en nidos de hepatocitos y conductos biliares dilatados, ramificados. El componente estromal consiste en fibroblastos, células inflamatorias, y vasos pequeños. Habitualmente, hamartoma mesenquimatoso y sarcoma embrional son considerados entidades del mismo espectro de enfermedad por que las dos lesiones comparte la misma anomalía citogenética. El rhabdomyosarcoma embrional del árbol biliar es usualmente observado en pacientes menores de cinco años. Es de presentación clínica distinta que sugiere una hepatitis viral obstrucción biliar. Estos síntomas clínicos como fiebre o ictericia son importantes en la diferenciación de sarcoma embrional. El tumor muestra patrón de crecimiento botroides en el lumen de los conductos biliares. Además, laminas compactas de células neoplásicas con mitosis abundantes son observadas histologicamente por debajo del epitelio biliar. Marcadores de musculo esquelético como miogenina y diferenciación miogenica 1 son usualmente positivos en esta lesión. Variantes de carcinoma hepatocelular como el tipo cirrótico y con características sarcomatoides son a veces difíciles de distinguir del sarcoma embrional. Ducto intracelular, nidos de células poligonales, cuerpos hialinos de Mallory son las pistas diagnosticas en el carcinoma hepatocelular. Además, reacción positiva de parafin hepatocito 1 es de ayuda para descartar sarcoma embrional. Tumor del estroma gastrointestinal en el hígado consiste en células epitelioides fusocelulares con citoplasma fibrilar eosinofílico. Expresión positiva de C-kit o CD34 es importante para la confirmación del diagnóstico y es un predictor de éxito terapéutico con inhibidor tirosina kinasa. Angiomiolipoma, que se considera un tumor de células epitelioides perivasculares, se caracteriza por la presencia de vasos sanguíneos, células de musculo liso, y células adiposas histológicamente. Puede ser mal diagnosticado como sarcoma cuando se manifiesta como células fusiformes pleomorficas. La lesión se caracteriza por ser positiva a HMB-45 y otros marcadores melanocíticos. Los sarcomas de alto grado, incluyendo leiomioma, liposarcoma, y angiosarcoma, son también importantes entidades que deben distinguirse del sarcoma embrional. A pesar de que cada

entidad puede exhibir células fusiformes y epitelioides pleomórficas, inmunohistoquímicamente es un método para distinguir estas entidades. Marcadores típicos de leiomioma son actina de músculo liso, desmina, miosina, y H-caldesmon. Murine doble minuto 2 es positiva en liposarcoma, y marcadores vasculares (CD31, CD34, y factor VIII) son positivo en angiosarcoma. El hemangioendoteliooma es raro, tumor vascular de bajo grado en adultos, con predominio en mujeres. Histológicamente, el tumor está compuesto por células epitelioides con vacuolas intracitoplasmáticas características. Un fondo mixoide que crea apariencia histológica similar al sarcoma embrional. Marcadores endoteliales positivos en células tumorales son de ayuda en el diagnóstico de esta variedad de tumor vascular. La apariencia histológica del melanoma maligno en el hígado a veces parece sarcoma embrional. Historia clínica pertinente, la presencia de pigmento melánico, y marcadores melanocíticos son herramientas de ayuda en el diagnóstico de melanoma maligno. (12, 13, 17)

El pronóstico de estos pacientes ha mejorado lentamente son manejados con tratamiento multimodal, que incluye terapia radiación y quimioterapia. La quimioterapia neoadyuvante es habitualmente de ayuda en casos irresecables. Además, quimioterapia postoperación y terapia de radiación son opciones razonables, particularmente en casos con márgenes positivos. Se ha reportado recientemente el éxito de pacientes con sarcoma embrional que reciben vincristina, actinomicina-D, y ciclofosfamida en régimen. Trasplante de hígado es un manejo exitoso en pacientes con recurrencia y enfermedad refractaria. Estudios han mostrado índice de supervivencia sobresaliente, índice de 70% a 100%, en pacientes que son tratados con terapia multimodal. El índice de recurrencia en sarcoma embrional es alto durante los primeros dos años después de la cirugía, y el riesgo es más alto con márgenes de sección positivos y casos con ruptura espontánea o iatrogénica de lesión hepática. Con un pronóstico malo con una media de supervivencia de menos de 1 año. La mortalidad es alta por la recurrencia y metástasis. (8, 16, 17)

Para el hamartoma mesenquimatoso, el mecanismo exacto de tumorigenesis no ha sido identificado. Se propuso inicialmente que la lesión era resultado de anomalías del desarrollo, obstrucción biliar, o perturbaciones de flujo sanguíneo. Estudios subsecuentes han demostrado la recurrencia del rearrreglo cromosomal que involucre 19q13 sugiriendo que la lesión es en verdad una neoplasia. Casi todas las publicaciones han definido los puntos de interrupción de la translocación en la base de estudios citogenéticos convencionales, pero conociendo el exacto punto de interrupción y detalles de la parte de genes de la translocación permanecen sin clasificar. En publicaciones recientes, los puntos de interrupción de la translocación en caso de sarcoma embrional que surge de hamartoma mesenquimatoso han mostrado que involucran al gen MALAT1 en el cromosoma 11 y a la región terminal pobre del gen MHLB1 del cromosoma 19. Dada la rareza del tumor, es difícil estudiar la biología molecular de la lesión usando métodos convencionales que requieren tejido fresco o grandes cantidades de alta calidad del ADN, y dada la escasez de estudios en verificar la genética del hamartoma mesenquimal no es sorpresa. (20, 24, 31)

La próxima generación de secuenciación se ha aprovechado en el uso para gran variedad de investigaciones y, más recientemente, en aplicaciones clínicas. Estos métodos están bien establecidos para el estudio de rearrreglos del ADN en hamartoma mesenquimatoso, desde que pueden ser usados para detectar cambios estructurales vía captura de base secuenciación objetivo realizándose con pequeñas cantidades de ADN y ARN extraído de tejido en formol conservado en bloques de parafina. (21, 23, 34)

Porque el 95% de los casos de hamartoma mesenquimatoso ocurren antes de los 5 años de edad y el 83% de los sarcomas embrionales ocurren después de los cinco años de edad, es concebible que algunos sarcomas embrionales se originen en novo y otros representen la transformación maligna del hamartoma mesenquimatoso. Citogenética y análisis ploide de estos tumores ha sido interesante, con algunos reportes mostrando la presencia de una translocación balanceada que involucra al cromosoma 19. Estudios citogenéticos previos de

hamartoma mesenquimatoso han demostrado aberraciones en la banda del cromosoma 19q13.4, como la translocación $t(11;19)(q13;q13.4)$. Recientemente, la secuencia de ADN en los puntos de interrupción de la translocación en el caso de los sarcomas que surgen de hamartomas mesenquimatosos abordan $t(11;19)(q11;q13.4)$ ha sido descrita. Los estudios confirman que el punto de interrupción ocurre en 11q13 en el gen MALAT1 y en 19q13.4 en el locus del MHLB1. Rearreglos de esta región se han demostrado en casos de sarcoma embrional que surge de hamartoma mesenquimatoso. Las translocaciones pueden ocurrir en un gen nuevo, o puede romperse MALAT1. Normalmente, MALAT1 se expresa en muchos tejidos, incluyendo páncreas. Sin embargo, previos estudios han demostrado sobreexpresión de este gen en varios carcinomas. (22, 28,31)

La importancia del locus 19q13.4 en la patogénesis de hamartoma mesenquimatoso es también sugerente por la entera similitud del sarcoma embrional. Sin embargo, se ha postulado que el hamartoma mesenquimatoso es un precursor del sarcoma embrional. Citometría de flujo ha demostrado que sarcoma embrional es habitualmente aneuploide, con fracción fase-s alta. Adicionalmente, análisis de cariotipo reveló un complejo de cariotipos, que incluyen al rearrreglo del cromosoma 19q13.4 (que coexiste con hamartoma mesenquimatoso). El vínculo entre estas dos entidades está fuertemente soportado por los casos descritos en el que sarcoma embrional ha sido encontrado coexistiendo con hamartoma mesenquimatoso. Con estos tumores, con áreas francamente malignas están separadas de la porción benigna por una zona de transición que representa la continuidad entre las dos áreas. Inmunohistoquímicamente los patrones de expresión revelan que todas las tres regiones demostraron características idénticas. Sin embargo, la citometría de flujo realizada en este tipo de tumores, una población de células diploides en hamartoma mesenquimatoso, y aneuploide en la población del área de sarcoma embrional, y en la porción intermedia de los dos en zona de transición. Estos hallazgos sugieren que estos tumores malignos se originan de hamartomas mesenquimatosos previamente existente y no son representación de tumores de colialision. (21, 24, 30)

El hamartoma mesenquimal esporádico es comúnmente asociado con la translocación involucrada MALAT1 en 11q13 en la región del 19q13.4, que ha sido recientemente identificada en el cromosoma 19 microARN trozo (C19MC). Menos frecuente, otro arreglo cromosomal que involucra 19q13.4 u otro locu han sido reportados. C19MC es trozo específico primitivo con 46 intronicos micro ARN, el trozo más largo fue identificado en humanos. La expresión de C19MC es controlada por una metilana diferencial CpG-rica promotora. Este gen es transcrito por Pol-II en solo noncordin ARN, luego procede a ser un microARN individual. C19MC no se expresa postnatal en tejido somático, pero expresión embriónica temprana es posible. Normal expresión de C19MC está restringida a la placenta, pero activación de transcripción ha sido reportada en neoplasias. (22, 23, 31)

Se ha demostrado que el punto de interrupción de la translocación $t(11;19)(q11;q13.4)$ presente en el sarcoma embrional que surge en hamartoma mesenquimatoso involucra el gen MALAT1 del cromosoma 11, y el locus en el cromosoma 19 que es el gen MHLB1 (mesenchymal hamartoma of the liver breakpoint 1). Además el punto de interrupción en la región del cromosoma 19 no ocurre en un gen conocido, se sospecha que el punto de interrupción ocurre en una región codificada. Es bien sabido que el MHLB1 locus ocurre en un punto de irrupción de un pedazo de la región por la característica translocación del adenoma tiroideo benigno, indicando que el locus puede tener un rol en el desarrollo de numerosas neoplasias. (20, 28, 34)

Los rearrreglos del MALAT1 han mostrado que están involucrados en la tumorigenesis de las neoplasias renales presentando la $t(6;11)(p12;a13)$, en donde el gen se fusiona con TFEB. En las neoplasias renales, la sobreexpresión de TFEB conducido por el MALAT1 promotor juegan un rol en la tumorigenesis, pero es de notarse que el lugar de las translocación el punto de irrupción del MALAT1 en neoplasias renales es desde 2.7 a 2.8 kb rebazando el sitio donde ocurre en el caso del sarcoma embrional que se origina del hamarto mesenquimatoso. MALAT1 aparece para unirse al grupo de locus que su rearrreglo está asociado con diferentes tipos de tumor de distintos tejidos. (22, 28, 33)

El punto de irrupción que caracteriza es el de sarcoma embrional que surge de hamartoma mesenquimatoso. translocaciones o rearrreglos más complejos involucran 19q13.3-19q13.4 son una característica en el cariotipo virtualmente en cualquier caso de hamartoma mesenquimatoso que ha sido sujeto a análisis de citogenética convencional, y también es una característica recurrente del sarcoma embrional que surge del hamartoma mesenquimatoso. Simultáneamente, translocaciones u otros rearrreglos involucrados 11q11-13 están presentes en la mayoría de los hamartomas mesenquimatosos y en pocos sarcomas embrionales que surgen de hamartoma mesenquimatoso. Esto significa que la t(11;19) está relacionada al desarrollo de hamartoma mesenquimatoso per alteraciones adicionales de otros locus son requeridas para la tumorigenesis del sarcoma embrional, consistente con recientes resultados de hibridación genómica comparativa que muestran el sarcoma embrional caracterizado con amplificaciones múltiples y deleciones. Aunque el mecanismo de tumorigenesis de hamartoma mesenquimatoso y sarcoma embrional permanece desconocido, la secuencia de la t(11;19) el punto de irrupción sugiere varios escenarios. (20, 24, 31)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se desconoce la relación biológica y molecular entre los hamartomas mesenquimatosos de hígado y los sarcomas embrionales indiferenciados, aunque hay observaciones que sugieren que, en ciertas circunstancias, los primeros podrían dar origen a los segundos. Como una contribución a la mejor comprensión de estas neoplasias, a la relación biológica entre ellas y a la identificación de las alteraciones moleculares responsables de la malignidad de los sarcomas embrionales indiferenciados, es la presencia de la translocación t (11;19)(q11-q13.4)

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la presencia de la translocación t(11;19)(q11-q13.4) en hamartomas mesenquimales y sarcomas embrionarios en niños del hospital infantil de México?

JUSTIFICACIÓN

Se conoce poco acerca de las características moleculares de los MHL. Existe la posibilidad de que estos tumores benignos puedan dar origen a UES que son tumores malignos.

El estudio de los patrones de expresión de miRNAs sería un primer paso para comprender la relación biológica y molecular entre ambos y, si los MHL pudieran dar origen a UES, para saber si es posible identificar las alteraciones moleculares que hacen posible dicha transición.

OBJETIVOS

Determinar la presencia de la translocación t (11;19)(q11-q13.4) en los hamartomas mesenquimatosos de hígado, sarcoma embrional indiferenciado transicional.

Determinar si hay traslape o continuidad entre los grupos formados por los tumores anteriores, o si los HML y los UES forman grupos discretos y separados.

Comparar la evolución clínica de los pacientes con HML, UES con o sin la translocación.

Conocer las alteraciones moleculares que subyacen estas dos neoplasias, y comprender la relación existente, a nivel molecular, entre HML y UES.

Correlacionar entre la evolución del HML, UES y tumores transicionales con la presencia o ausencia de la translocación t(11;19)(q11-q13.4).

HIPÓTESIS

Los hamartomas mesenquimatosos hepáticos que presentan la translocación t(11;19)(q11-q13.4) evolucionan a sarcoma embrionario hepático.

MÉTODOS

Tipo de estudio. Observacional, longitudinal, retrospectivo y comparativo.

Diseño del estudio. Transversal analítico.

Universo de trabajo.

Tumores de pacientes con diagnóstico de hamartoma mesenquimatoso hepático (HMH), sarcoma embrionario indiferenciado (SEI) y de pacientes que en un inicio fueron diagnosticados con HMH y que evolucionaron a SEI, recibidos en el Departamento de Patología del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" entre 2000 a 2016.

Criterios de selección.

Criterios de inclusión.

- a) Pacientes menores de 18 años.
- b) Uno y otro sexo.
- c) Con diagnóstico histopatológico hecho en el Departamento de Patología del Hospital Infantil de México Federico Gómez
- d) Con laminillas y bloques de parafina en el archivo del Departamento de Patología del Hospital Infantil de México Federico Gómez

Criterios de no inclusión.

- a) No contar con material para estudio histopatológico en condiciones adecuadas.
- b) No contar con bloques de parafina con tejido en condiciones adecuadas.
- c) Expediente clínico incompleto.

Estandarización y evaluación de los datos histológicos.

Se revisarán todas las laminillas de los casos para confirmar el diagnóstico, valorar su calidad y seleccionar el bloque de parafina del cual se realizará la extracción de RNA y DNA.

Validez interna.

Se revisará cada una de las muestras por dos patólogos del departamento de Patología del Hospital Infantil de México Federico Gómez de forma independiente y se compararan resultados obtenidos por ambos.

Validez externa.

Los resultados del experimento pueden ser generalizados a sujetos con características semejantes de distintas poblaciones, lugares o experimentadores, para establecer relaciones generales valiosas. Este experimento puede demostrar una relación inequívoca.

Material biológico

Se trabajará con muestras de hamartoma mesenquimatoso hepático (HMH), de sarcoma embrionario indiferenciado (SEI), de la zona de transición HMH-SEI y de hígado normal, tomadas del banco de tejidos fijados en formol e incluidos en parafina (FFIP), del Departamento de Patología del Hospital Infantil de México, considerando los años 2000 al 2016. Para el grupo control, se seleccionara un área de la muestra que se encuentre libre de tumor. De las muestras en parafina se obtendrán 5 cortes de 10 micras que serán depositados en tubos ependorff de 1.5mL, para la extracción del RNA y del DNA.

Para estudiar ácidos nucleicos, el material idóneo es tejido fresco o congelado en el cual esas moléculas no se han degradado. Sin embargo, esto no siempre es posible, por lo cual es necesario recurrir a muestras fijadas. La fijación induce la formación de enlaces entre los ácidos nucleicos y las proteínas y puede asociarse con la degradación de los primeros, sobre todo cuando el tiempo de fijación es prolongado y cuando el pH del fijador no es el adecuado. Normalmente el RNA es más afectado por la degradación en virtud de que las cadenas sencillas de ácidos

nucleicos son más lábiles que las dobles. No obstante esto, los miRNAs, por su pequeño tamaño, no se degradan en la misma medida que el resto de los RNAs. Esto permite obtener miRNA de muy buena calidad a partir de material fijado. Más aún, se ha visto que los patrones de expresión de los miRNAs obtenidos de material fijado muestran una correlación estrecha con los patrones observados cuando se utiliza material fresco.

Se usarán muestras fijadas de cada tipo de tumor (hamartoma mesenquimatoso, sarcoma embrinal, transicional) pertenecientes al archivo de Patología; 3 Hamartoma mesenquimatoso de hígado, 3 sarcoma embrional indiferenciado y 3 con características intermedias. De cada muestra se obtendrán de 4 a 6 secciones, cada una con un grosor de 10 μ m. El RNA será extraído con el kit miRNeasy FFPE (Qiagen, México), eluyendo en 24 μ l de agua libre de RNAsas. De 1.5 a 2.0 μ l se usarán para medir la concentración y pureza (A_{260} , A_{260}/A_{280} , A_{260}/A_{230}) de los miRNAs. Esto se hará con un espectrofotómetro Nanodrop (Nanodrop, Wilmington, DE, EEUU).

A partir de 25 ng de RNA se obtendrá cDNA con el kit miScript Reverse Transcription (Qiagen) en una reacción de 25 microlitros. El cDNA será diluido 1:10 para las PCRs en tiempo real (qPCRs). Éstas se harán con miScript SYBR Green PCR (Qiagen). Se hará una mezcla común para todas las reacciones, empleándose 24 μ l por muestra y agregando 1 microlitros de templado. Los microRNAs se estudiarán mediante arreglos de expresión (miScript miRNA PCR Array Human Cancer PathwayFinder, Qiagen). Los experimentos se harán por triplicado, incluyendo los controles para cada corrida, en un termociclador de tiempo real (Applied Biosystems OneStep Plus).

Extracción de RNA

Para la extracción del RNA primero se eliminó la parafina de las muestras, para lo cual, a las muestras se les agrego 1mL de xilol, se agitaron y se calentaron a 45°C por 5 min. Posteriormente, a las muestras se les retiraro el xilol por decantación, se les agrego 1mL de etanol absoluto, se centrifugo, se les retiraro el etanol por

decantación y se dejó que el etanol residual se evaporara. Una vez secas las muestras, se les adicionó 350µL de buffer de digestión más 15µL de proteinasa K y se incubaron a 42°C hasta que no se observen trazas de tejido. Después se adicionará 600µL de trizol a la muestra, se agitaron vigorosamente, se agregó 120µL de cloroformo, se agitó y se centrifugó a 12 000rpm por 5min a 4°C. Posteriormente, se recolectó la fase acuosa, se le adicionó 2µL de glucógeno y 300µL de isopropanol, y se colocaron a -20°C toda la noche, para precipitar el RNA. Posteriormente, se centrifugó por 20min a 4°C, el botón que se obtuvo se lavó con 1mL de etanol al 75%, se le retiró el etanol y se dejaron secar hasta que el botón se vea transparente. Una vez seco, el botón se resuspendió en agua DPCE, se extrajo el RNA con el kit Recover all y se midió la pureza y la cantidad de RNA en un nanodrop-1000 (Thermo Fisher Scientific Waltham, MA, USA).

Expresión de microRNAs en HMH, SEI y en la zona de transición

Para la reacción de RT se colocarán 100ng de RNA y se utilizará el kit miScript SYBR Green PCR (Qiagen) y los arreglos miScript PCR (Qiagen), que incluye oligonucleótidos específicos para la síntesis simultánea de 384 microRNAs diferentes. Se realizará una cuantificación relativa utilizando la fórmula $2^{-\Delta Ct}$. Como control endógeno se utilizarán RNU-48 y RNU-44.

Secuenciación del exoma

Se extraerá RNA de muestras fijadas en parafina. En aquellos casos en los cuales esté presente tanto el hamartoma como el sarcoma, se tomará una porción de cada uno de ellos, lo mismo que de la región de transición. Para cada muestra, se tomará tanto tejido neoplásico como tejido sano, con objeto de filtrar algunas de las variantes que no estén involucradas en la tumorigenesis. Con el RNA serán generadas las librerías de exomas para secuenciación de 2ª generación. Se utilizará el procedimiento Nextera para la captura del exoma. Se utilizarán celdas de flujo de alto rendimiento, con la capacidad para generar secuencias de extremos pareados. Se hará de manera multiplex utilizando un instrumento NextSeq500 (Illumina, San Diego). Los datos arrojados por la secuenciación serán

filtrados utilizando un control de calidad. A continuación serán separados los fragmentos de la reacción multiplex, se utilizará BWA para el alineamiento de las secuencias con el genoma de referencia (hg19) y se obtendrán archivos BAM. Los fragmentos duplicados se marcarán con Picard y los alineamientos locales, en regiones con indels, se harán con GATK. Las mutaciones serán confirmadas mediante secuenciación Sanger. Las mutaciones genéticas confirmadas serán buscadas en bases de datos (v. gr., COSMIC) y, si fueran novedosas, su probable efecto sería analizado mediante procedimientos bioinformáticos.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Se considera sin riesgo en virtud de que se utilizarán muestras de tejido obtenidas con anterioridad con fines de diagnóstico patológico o para exámenes clínicos de rutina.

De acuerdo al reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, en su Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección I, esta investigación está considerada sin riesgo y no requiere consentimiento informado.

PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para determinar el perfil de expresión de los miRNAs, se cuantificará la expresión de los miRNAs mediante qRT-PCR. Después, para determinar la expresión se realizará una cuantificación relativa mediante la fórmula $2^{-\Delta\Delta Ct}$, se obtendrá el promedio y la desviación estándar, y mediante la prueba t-Student se comparará el valor obtenido en los diferentes grupos experimentales, utilizando el programa computacional Graph Pad Prim 5 y por mapas de calor.

Para analizar las mutaciones, se hará secuenciación de segunda generación del control, el HMH, el SEI y de la zona de transición. Posteriormente, las mutaciones encontradas serán buscadas en la base de datos COSMIC, y si fueran novedosas, su probable efecto sería analizado mediante procesos bioinformáticos.

Se utilizará estadística descriptiva. La asociación entre la alteración molecular y ambos tumores se determinará mediante la prueba de chi cuadrada. Un valor de $P \leq 0.05$ se considerará como significativo.

Las variables continuas se informaran como media y mediana, con sus correspondientes rangos absolutos respectivamente. Las variables categóricas se presentan como frecuencia con los porcentajes.

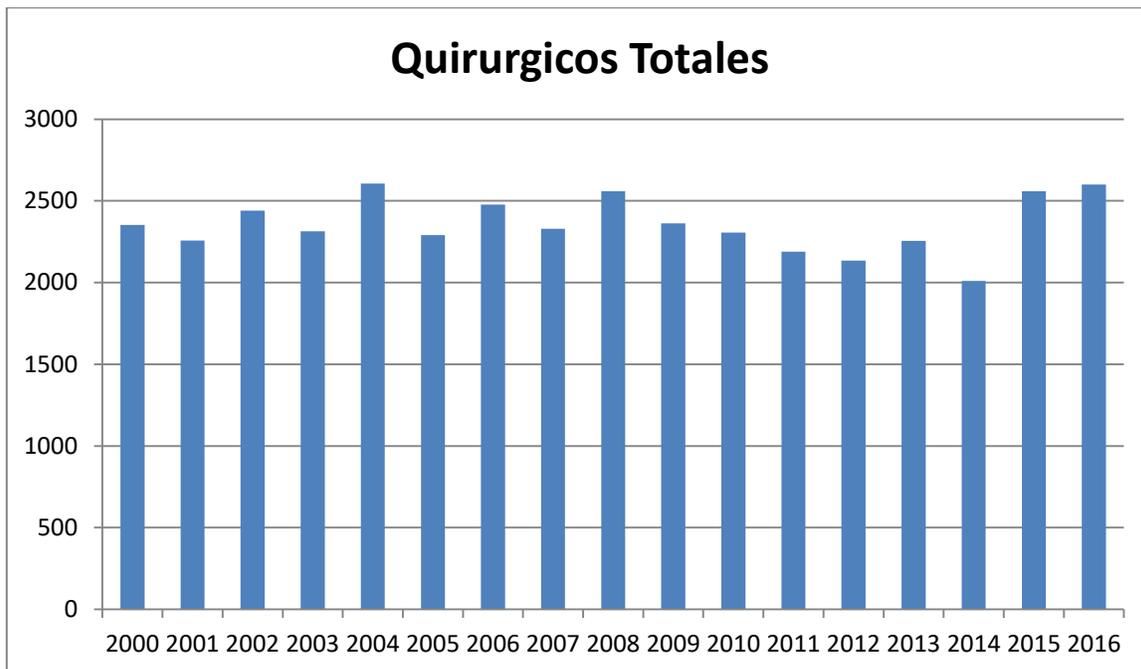
DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

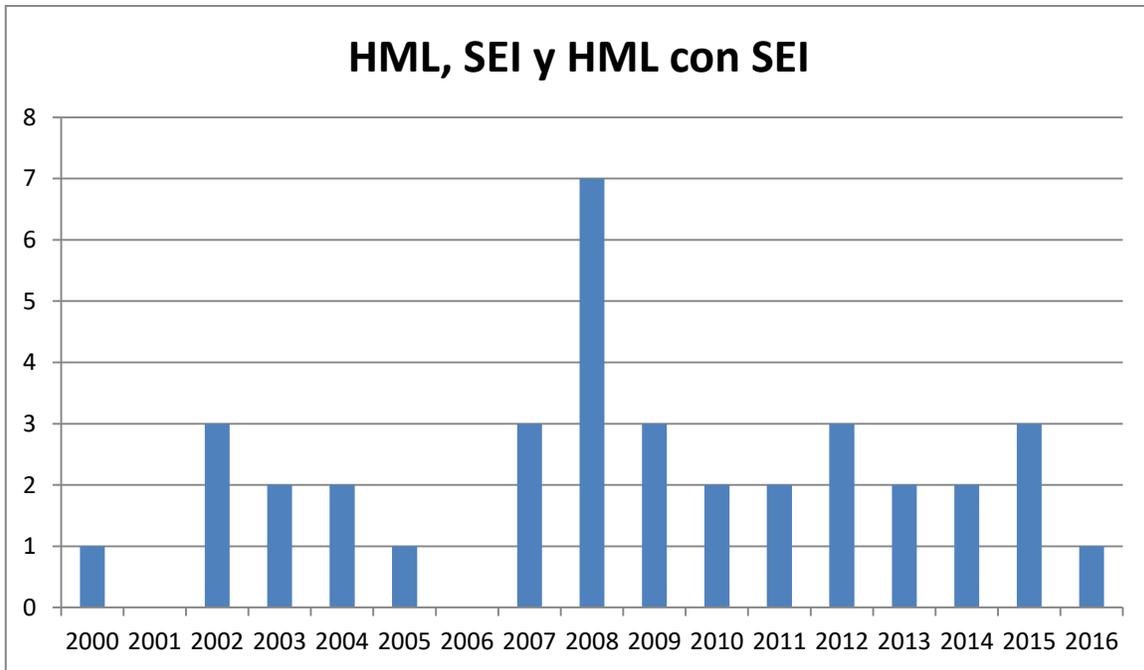
Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medición
Quirúrgicos	Quirúrgicos realizados	Base de datos de patología	Cuantitativa continua	Valor numérico
Casos reportados	Casos diagnosticados	Base de datos de patología	Cuantitativa continua	Valor numérico
Edad	Tiempo transcurrido entre el nacimiento y la presentación del tumor	El consignado en el estudio de patología	Cuantitativa discreta	Años
Sexo	Fenotipo de los pacientes	El consignado en los expedientes	Cualitativa nominal	Femenino o Masculino
Síntomas clínicos	Sintomatología presentada por el paciente	Dolor abdominal, presencia de masa en hipocondrio derecho, distensión abdominal	Cualitativa nominal	Si o No
Diagnóstico clínico	Aspecto clínico de la enfermedad	Mediante el abordaje clínico	Cualitativa nominal	Tumor Abdominal o Hepatoblastoma
Niveles de alfa feto proteína	Valor de niveles séricos	Mediante estudio de sangre	Cuantitativo continuo	Elevado o normal

Tipo de Lesión	Aspecto histológico del tumor	Mediante estudio histológico determinar el tipo	Cualitativa nominal	Hamartoma mesenquimatoso, Sarcoma embrional o Mixto
Lóbulo hepático afectado	Localización espacial en el hígado y lateralidad	Derecho, izquierda, central o bilateral	Cualitativa nominal	Derecho, Izquierdo o central
Tamaño del tumor	Dimensiones del tumor	Mediante reporte macroscópico	Cuantitativo continuo	Valor numérico
Tratamiento quirúrgico	Tratamiento realizado para remover el tumor	El consignado en los expedientes	Cualitativo nominal	Lobectomía o explanté
Tratamiento terapéutico	Tratamiento farmacológico que recibió	El consignado en los expedientes	Cualitativo nominal	Quimioterapia o radioterapia
Tiempo de evolución	Tiempo que lleva con los síntomas antes del diagnóstico	El consignado en los expedientes	Cuantitativo continuo	Meses
Tiempo de supervivencia	Tiempo de vida después del tratamiento	El consignado en los expedientes	Cuantitativo continuo	Años
Bordes quirúrgicos	Presencia de tumor en márgenes quirúrgicos	Mediante estudio histológico	Cuantitativo discreto	Afectados o No afectados
Metástasis	Presencia de tumor otro órgano	Mediante estudio histológico	Cuantitativo discreto	Si o No
Infiltración a vesícula biliar	Presencia de tumor en vesícula biliar	Mediante estudio histológico	Cuantitativo discreto	Si o No
Presencia de t(11;19)(q11-13.4)	Valor de expresión en PCR	Medición con micro-RNA	Cuantitativo discreto	Si o No

RESULTADOS FINALES

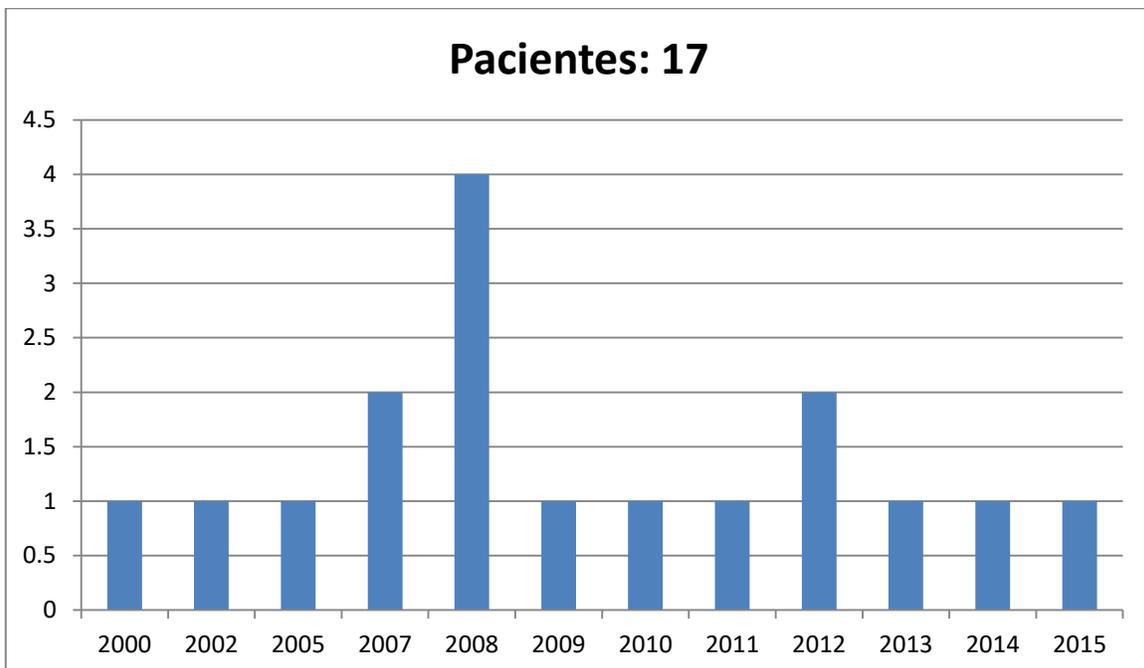
Se analizó y revisó el total de estudios quirúrgicos del año 2000 – 2016 para cuantificar aquellos con hamartoma mesenquimal y sarcoma embrional indiferenciado de hígado.



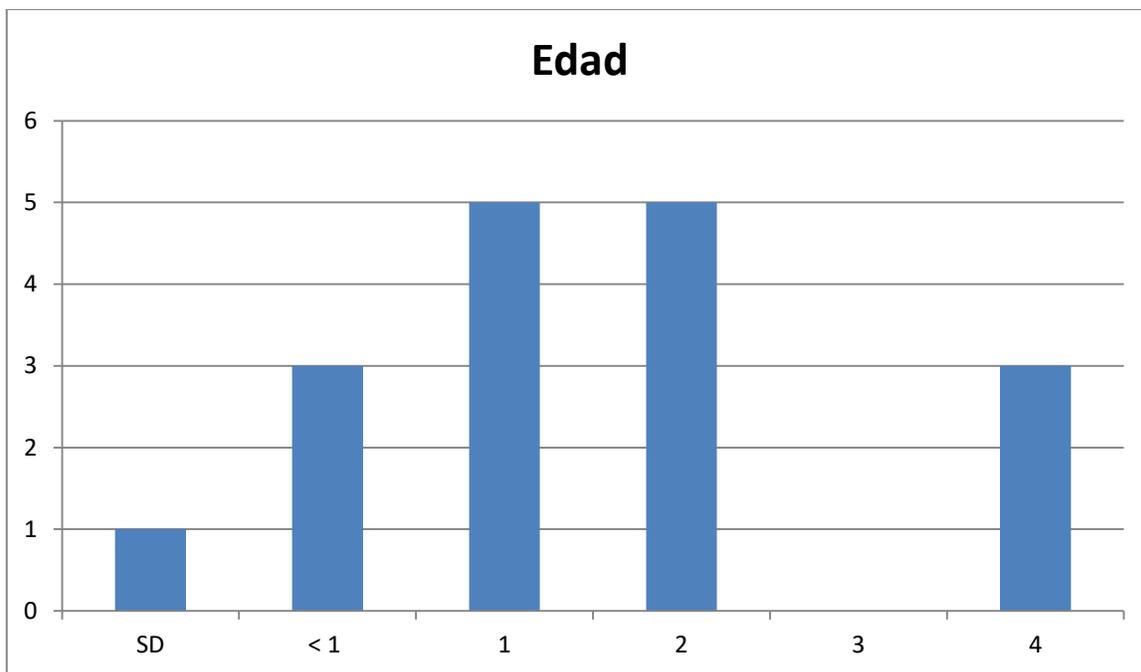


Del total de quirúrgicos del 2000 – 2016, que corresponden a quirúrgicos hamartomas mesenquimatosos, sarcomas embrionales indiferenciados y hamartomas mesenquimatosos con sarcomas embrionales indiferenciados.

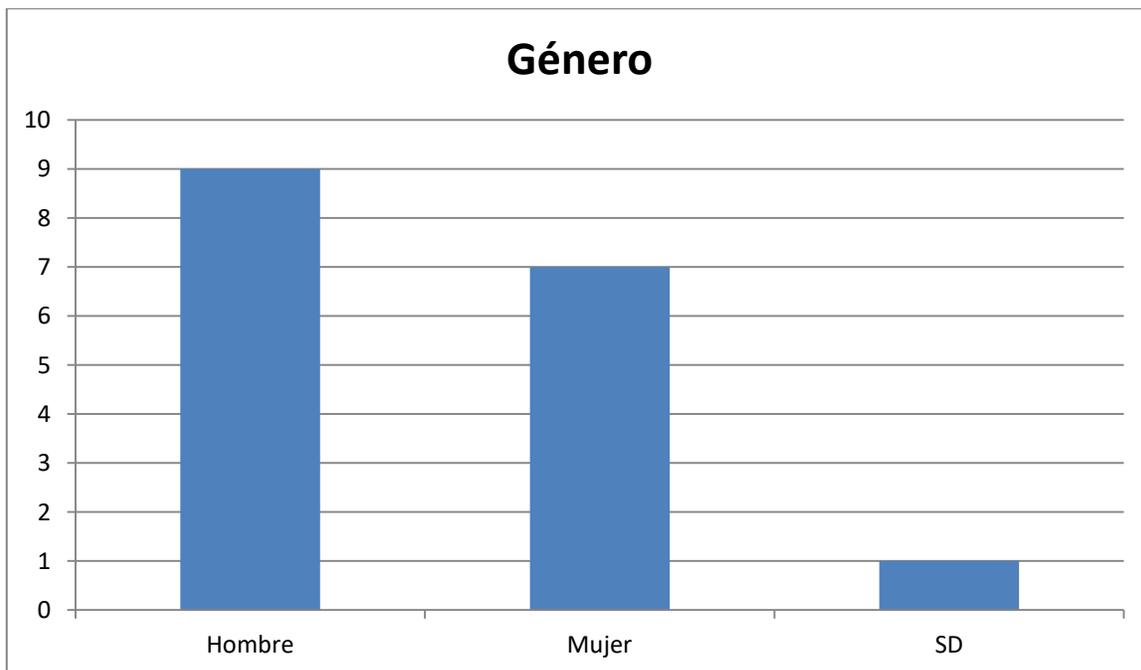
Del total de quirúrgicos del 2000-2016, que corresponden a pacientes con hamartoma mesenquimatoso hepático.



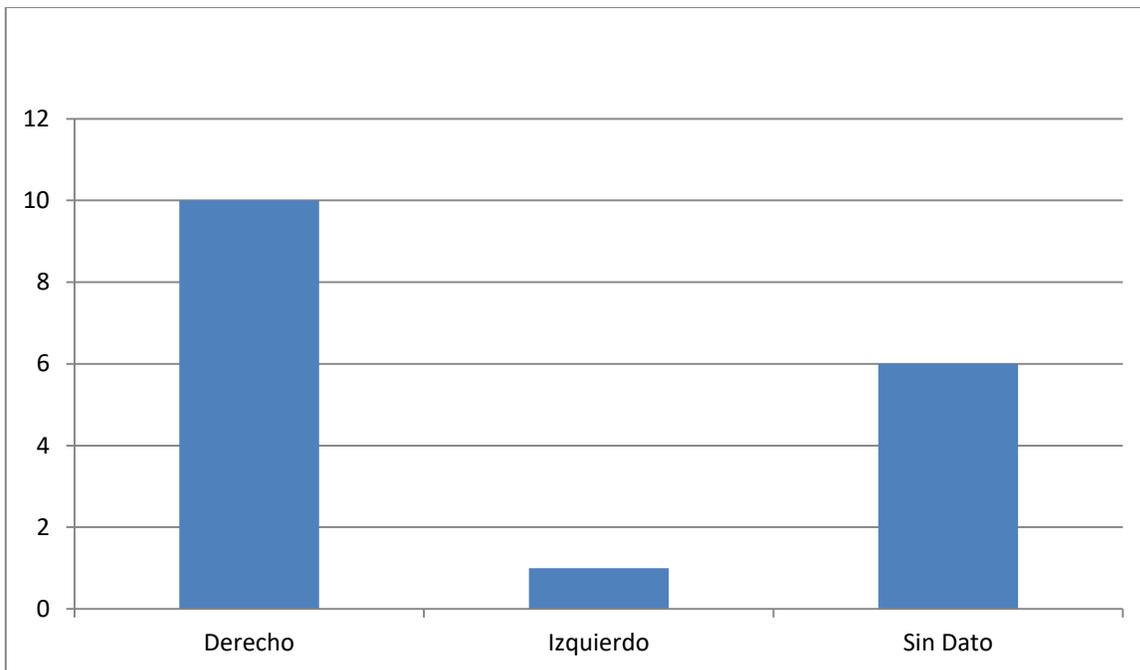
Con respecto a las edades de los pacientes con hamartoma mesenquimatoso de hígado del 2000 – 2016



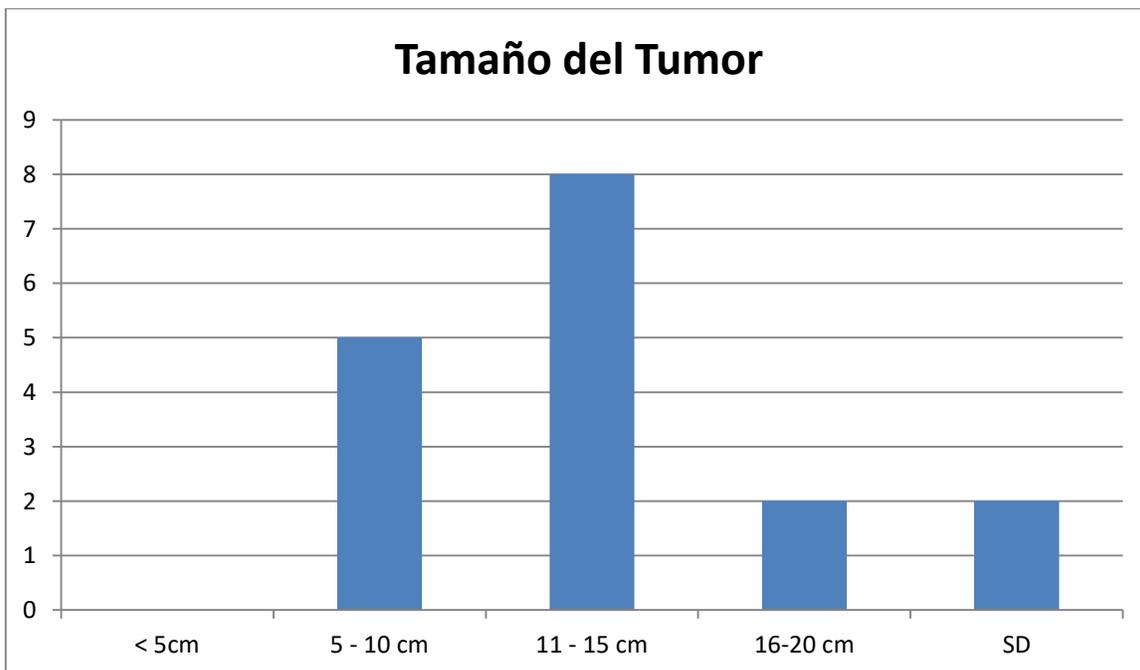
De los casos con hamartoma mesenquimatoso hepático del 2000-2016, se realizó la división por género.



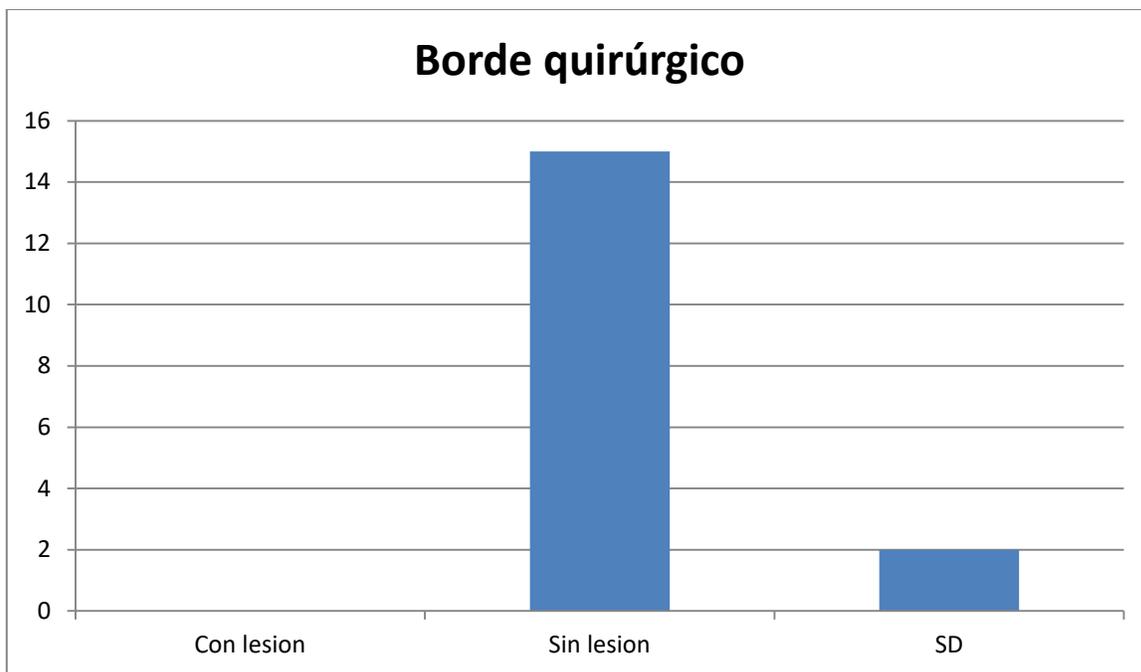
Los casos con hamartoma mesenquimatoso hepático del 2000-2016, se informa que lóbulo hepático está afectado por la lesión.



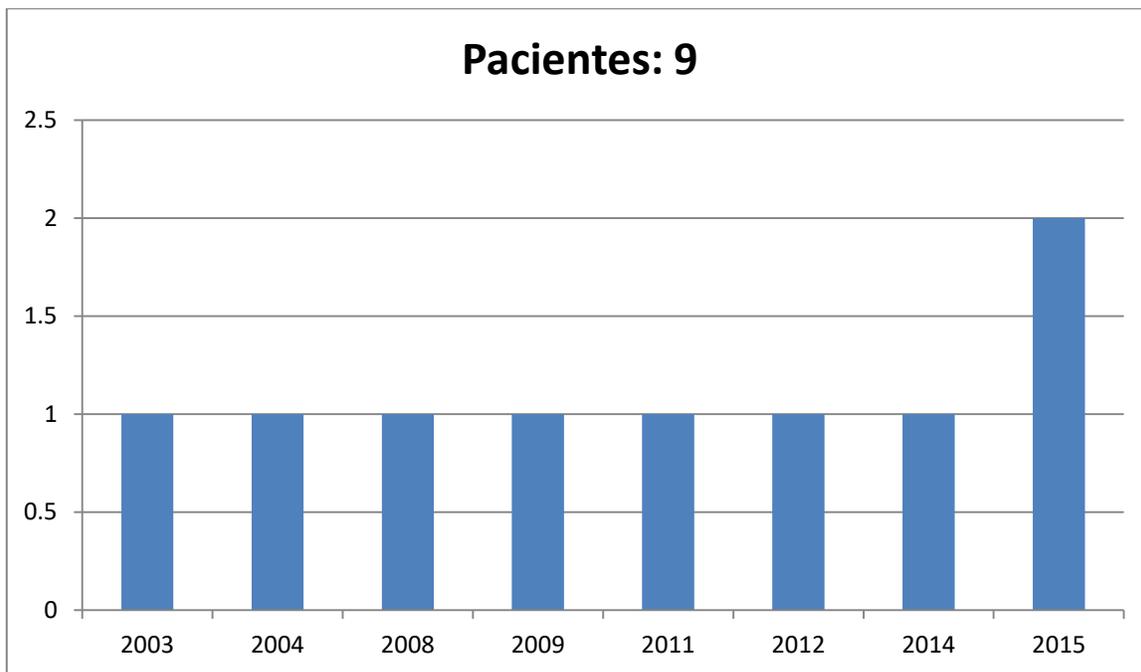
Los casos con hamartoma mesenquimatoso hepático del 2000-2016, se reporta tamaño de la lesión tumoral.



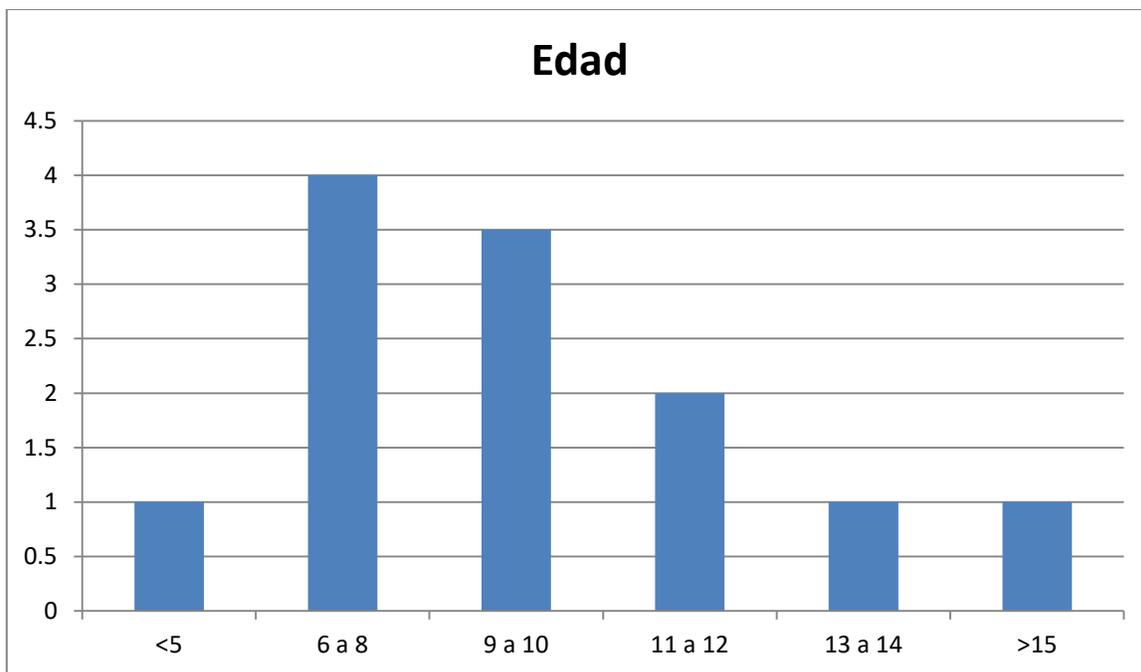
Los casos con hamartoma mesenquimatoso hepático del 2000-2016, los bordes quirúrgicos.



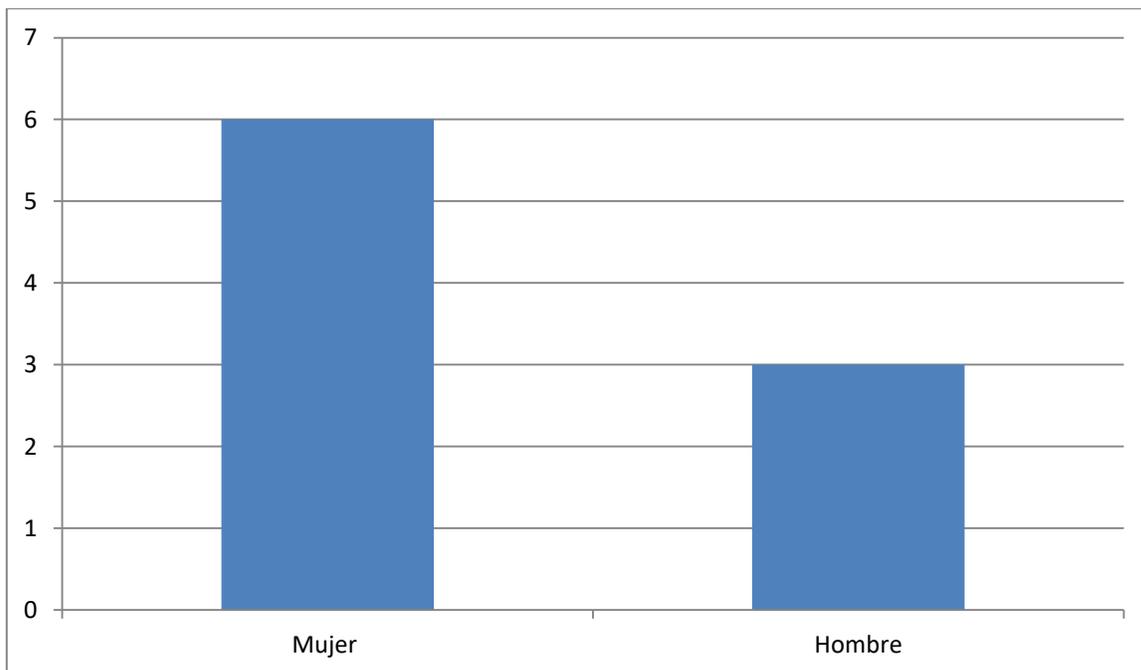
Con respecto a los pacientes con sarcoma embrional indiferenciado del 2000-2016.



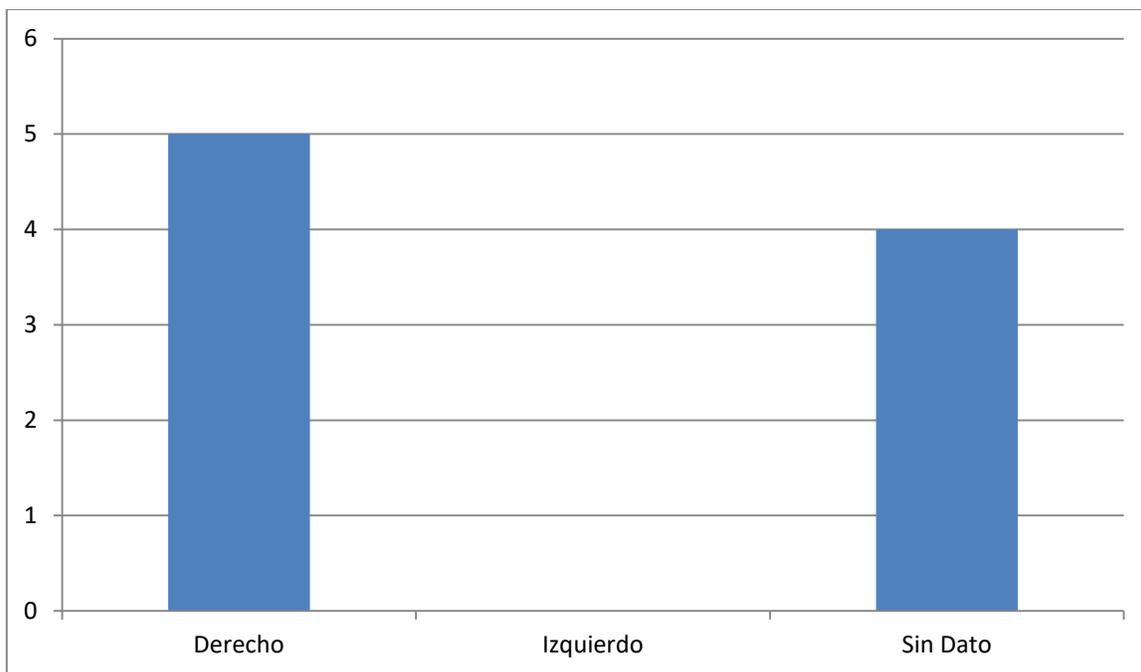
Los casos con sarcoma embrional indiferenciado del 2000-2016, se recolectan las edades.



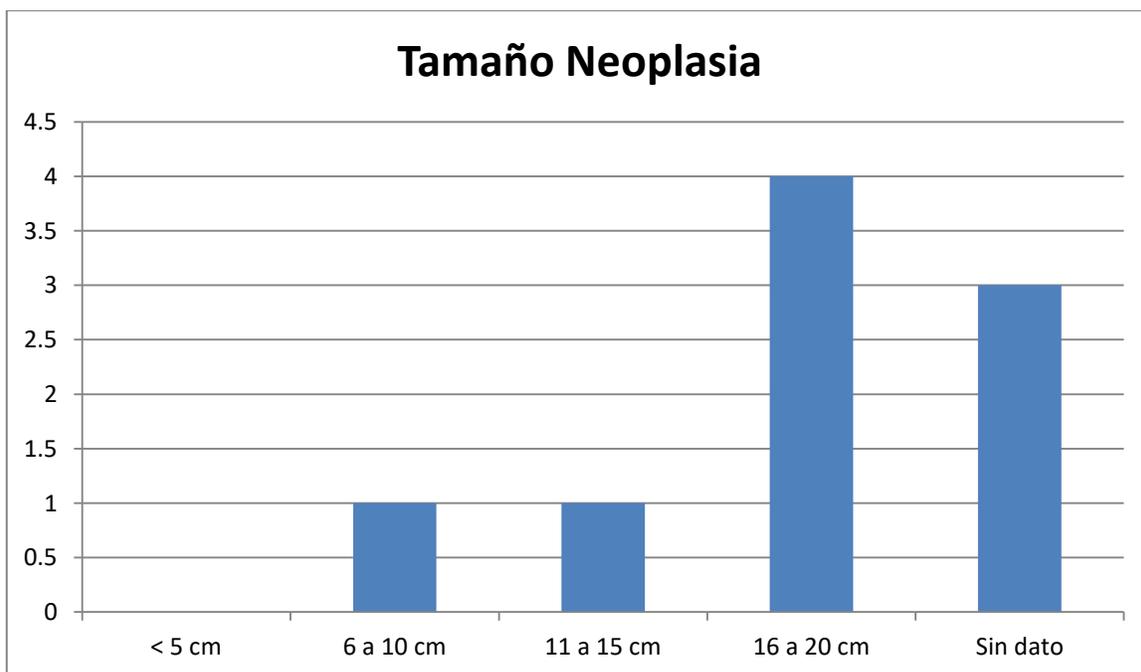
Los casos de sarcoma embrional indiferenciado del 2000-2016, se informa género de los pacientes.



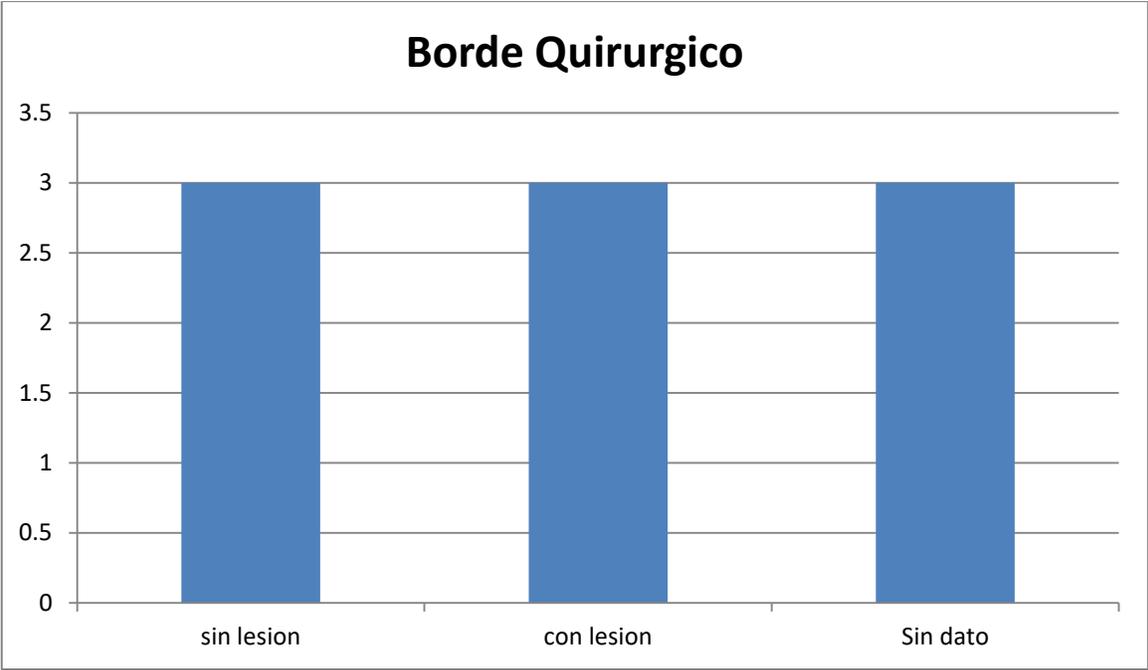
Los casos de sarcoma embrional indiferenciado del 2000-2016, se informa que lóbulo hepático está afectado por la lesión.



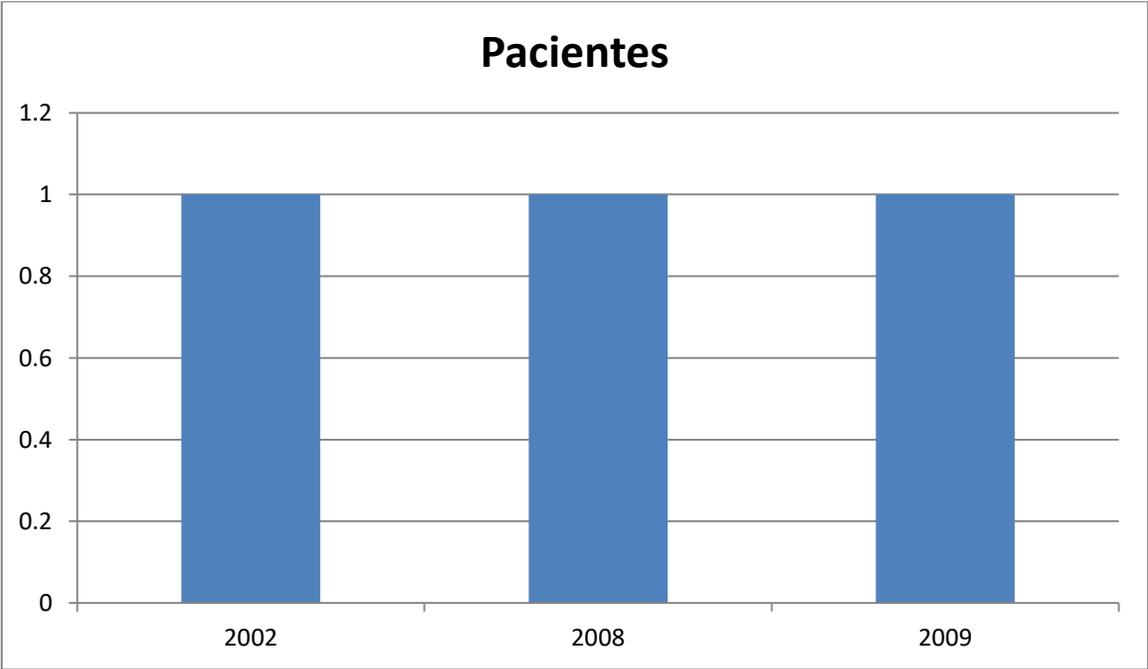
Los casos de sarcoma embrional indiferenciado del 2000-2016, se informa tamaño de la lesión.



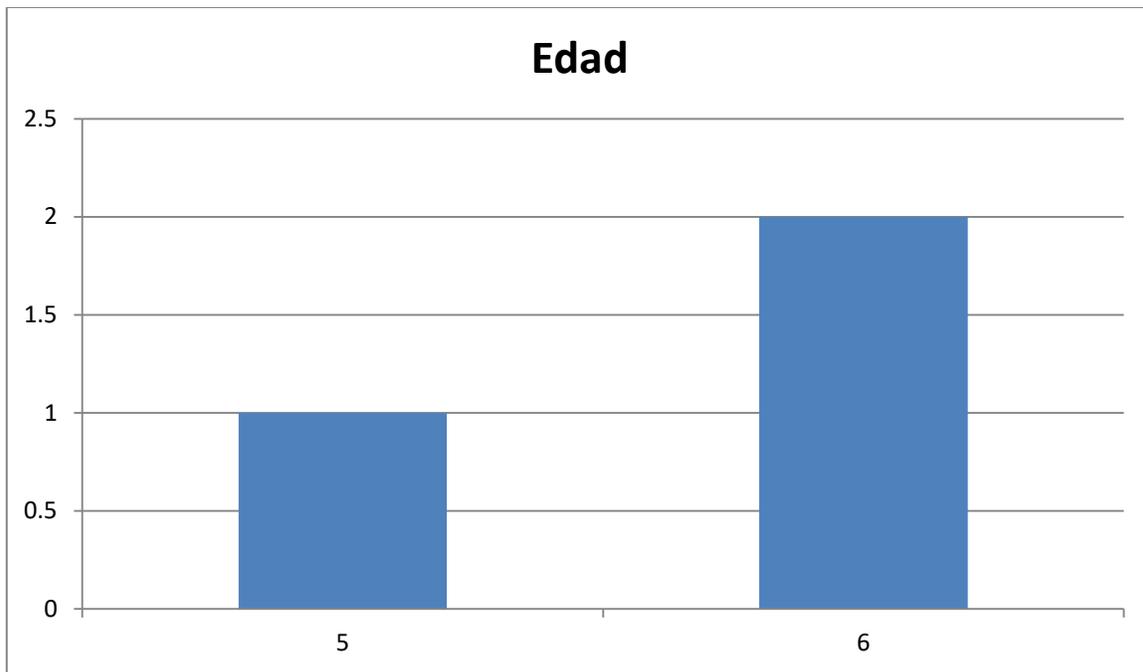
Los casos de sarcoma embrional indiferenciado del 2000-2016, se informa afectación de bordes quirúrgicos.



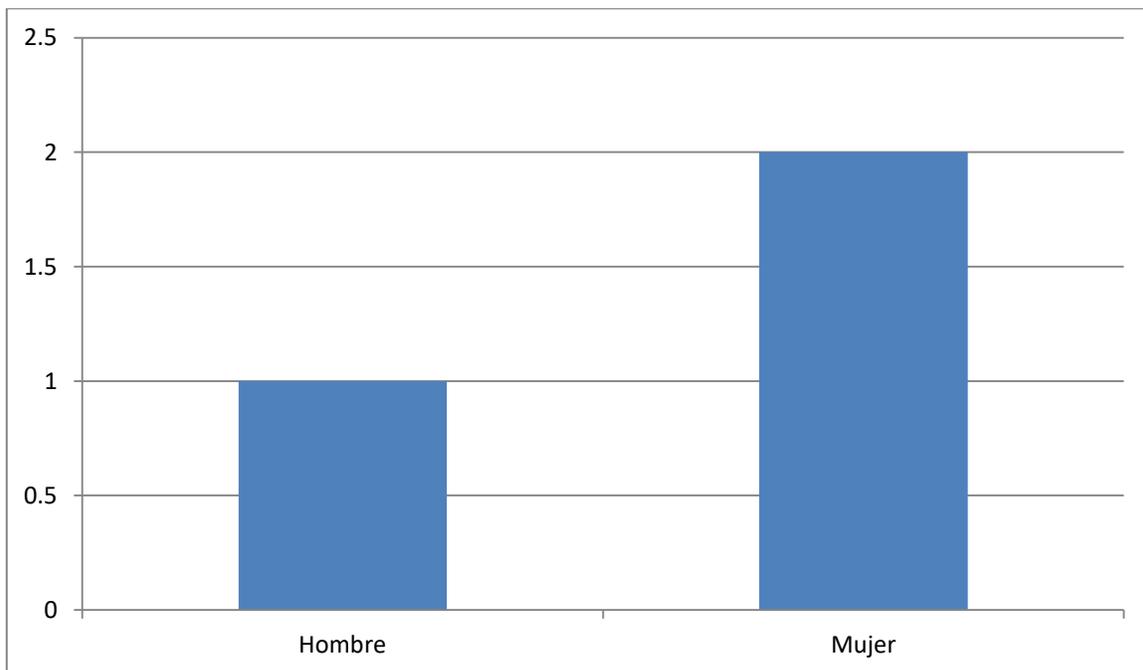
Los casos con hamartoma mesenquimatoso hepático y sarcoma embrional indiferenciado en una misma lesión del 2000-2016.



Los casos con hamartoma mesenquimatoso hepático y sarcoma embrional indiferenciado en una misma lesión del 2000-2016, la edad de ellos.

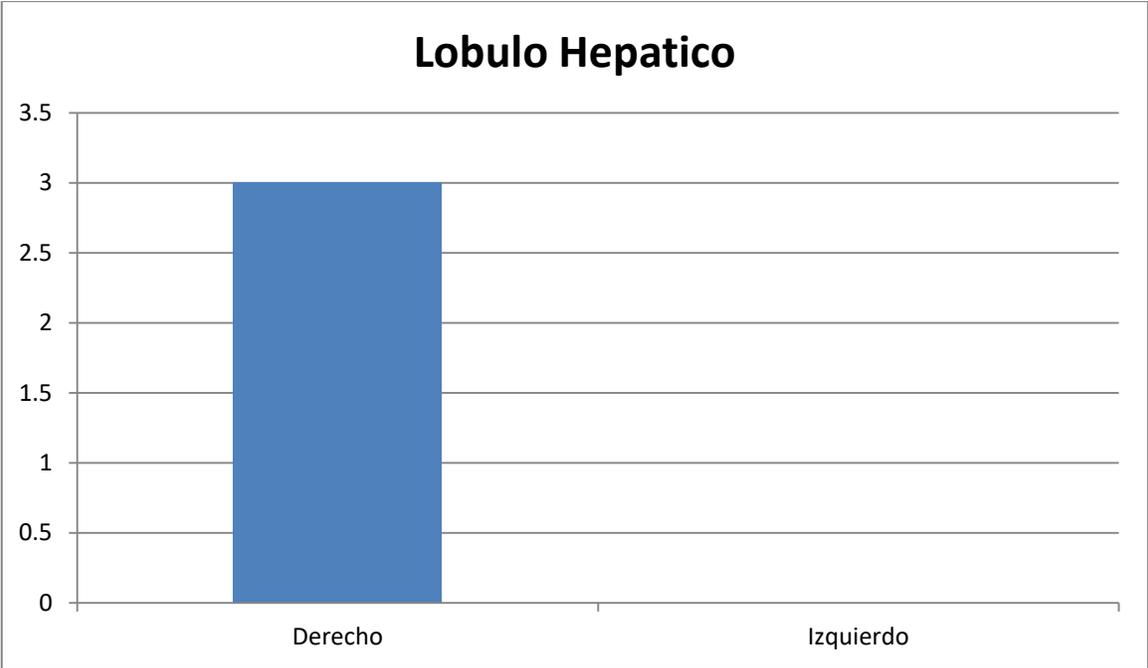


Los casos con hamartoma mesenquimatoso hepático y sarcoma embrional indiferenciado en una misma lesión del 2000-2016, se informa el género.

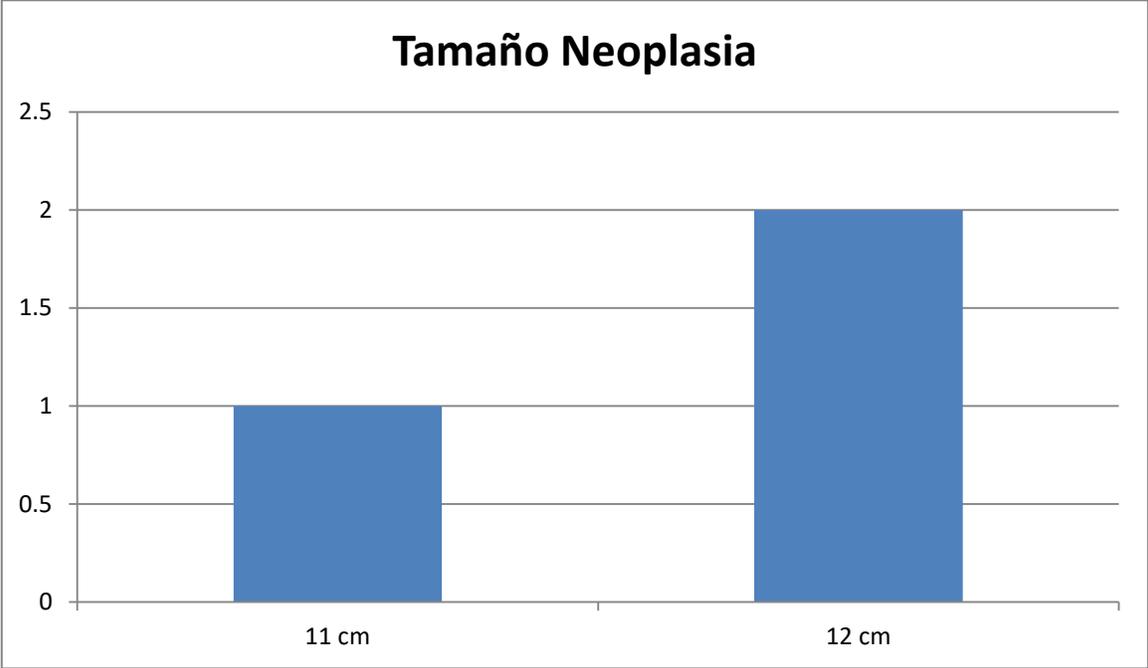


Los casos con hamartoma mesenquimatoso hepático y sarcoma embrional

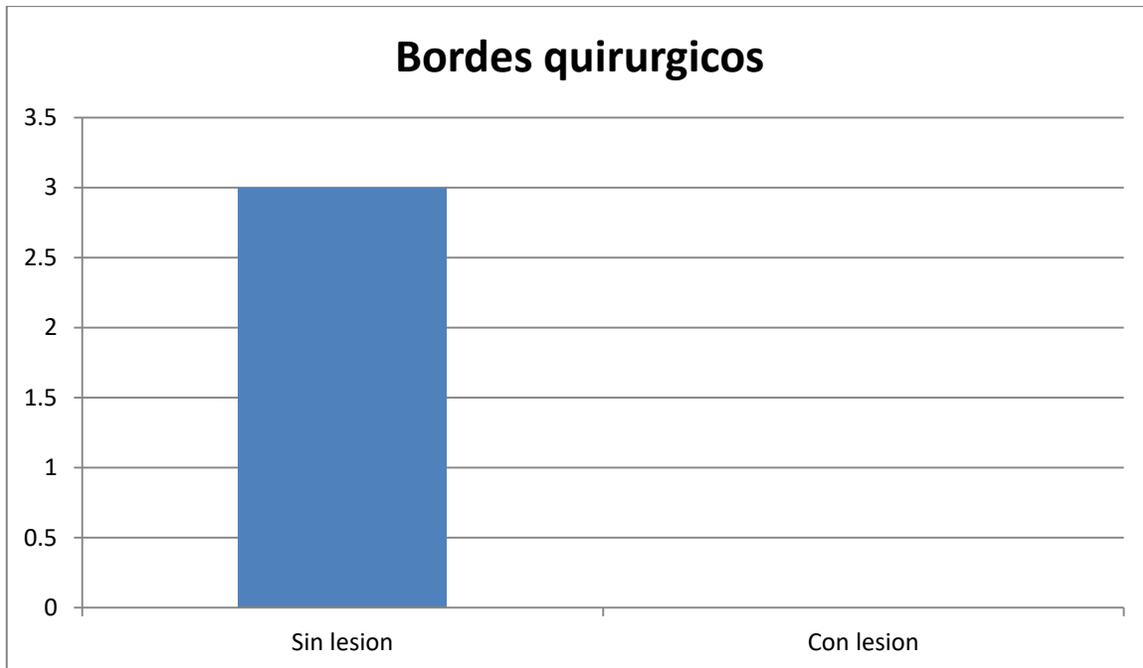
indiferenciado en una misma lesión del 2000-2016, se revisó que lóbulo fue el afectado.



Los casos con hamartoma mesenquimatoso hepático y sarcoma embrional indiferenciado en una misma lesión del 2000-2016, se muestra el tamaño de la neoplasia.



Los casos con hamartoma mesenquimatoso hepático y sarcoma embrional indiferenciado en una misma lesión del 2000-2016, se informa el estado de los bordes quirúrgicos.



DISCUSIÓN

El hamartoma mesenquimatoso es un tumor hepático mixto, sólido y quístico. La mayoría se presenta durante los primeros dos años de vida. Las lesiones están cubiertas por una capsula fibrosa gruesa, fusionadas con el parénquima hepático, en el interior hay un material amarillo claro, gelatinoso. Sus dimensiones varían de 3 a 30 cm y su peso de 240 a 680 g. El lóbulo derecho es el más afectado en un 75 a 90% de los casos, rara vez pueden ser bilaterales o localizados en todos los segmentos. Se ha descrito una mayor incidencia en pacientes masculinos. La patogénesis no está bien esclarecida, pero se sugiere una translocación del brazo largo de los cromosomas 19, 11 y 15, todas las cuales involucran la banda 19q13.4. (15,26)

En nuestro estudio, la edad en que se presenta frecuencia el hamartoma mesenquimatoso, es a los dos años, con predominio en hombres, el lóbulo más

afectado fue el derecho con unas dimensiones de 10 cm. Esto concuerda con lo reportado tanto en la literatura nacional como internacional.

El sarcoma embrional indiferenciado del hígado es una neoplasia hepática poco frecuente que tiene predilección por niños. Se presenta como una masa única, grande de 10-30 cm, bien delimitada, más común en lóbulo hepático derecho. (15,26)

En el presente estudio las características de la población con sarcoma embrionario indiferenciado son de distribución como lo señala la literatura, en edad, sexo, localización y tamaño de la neoplasia.

CONCLUSIÓN

Los hamartomas mesenquimatosos en niños es un problema importante que debe tomarse en cuenta en el diagnóstico diferencial de pacientes con aumento del tamaño del hígado, cuando se está frente a un niño menor de dos años con masa hepática. El pronóstico es bueno, ya que es una tumoración benigna, sin embargo, se puede malignizar a sarcoma embrional. La resección hepática total es la forma ideal de tratamiento, con seguimiento continuo por ultrasonidos abdominales de control. En algunos casos puede amenazar la vida por sangrado masivo, torsión tumora, falla cardiaca y coagulación intravascular diseminada.

El sarcoma embrional indiferenciado del hígado puede experimentar diferenciación pluripotencial y el diagnóstico debe basarse principalmente en las características morfológicas. La inmunohistoquímica no tiene relevancia específica o de diagnóstico, pero, mediante el uso de un panel de anticuerpos, puede ayudar a descartar otros tumores. Es una neoplasia maligna poco frecuente, se presenta al diagnóstico como un tumor extenso que involucra varios segmentos hepáticos, y tiene un pobre pronóstico, sin embargo con una terapia multimodal que incluya exeresis completa al inicio y tratamiento quimioterapéutico podría mejorarse los resultados.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La presente investigación analiza solo variables contenidas en el reporte de patología y no discute las translocaciones por falta de recursos.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Tiempo	Jul- Ago/16	Seo- Oct/16	Nov- Dic/16	Ene- Feb/17	Mar- Abr/17	May- Jun/18
Bibliografía	X	X	X			
Elaboración del Protocolo	X	X	X	X		
Obtención de Información	X	X	X	X	X	
Procesamiento y Análisis				X	X	
Elaboración Final						X
Publicación de Resultados						X

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

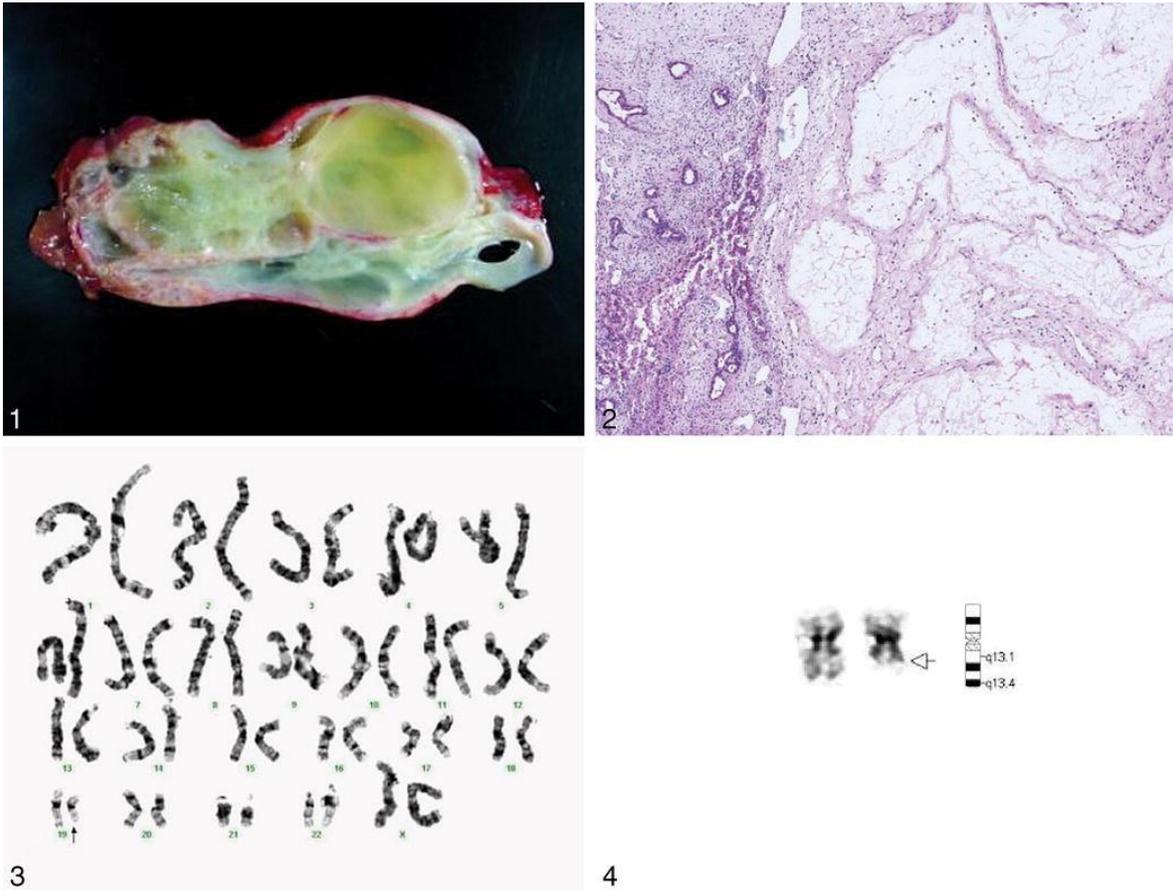
1. Prabhu VR y Burt AR (2007). Pathology of liver tumors. Surgery.Oxford 25(1):10–15
2. Burt AD, Portmann BC y Ferrell LB (2006) MacSween's pathology of the liver. 5th edn. London: 761–814
3. Parikh T, Drew SJ, Lee VS y col. (2008) Focal liver lesion detection and characterization with diffusion-weighted MR imaging: comparison with standard breath-hold T2-weighted imaging. Radiology 246(3):812–822
4. Malagari K, Drakopoulos S, Brountzos E, et al. (2001) Mesenchymal tumors of the liver. Clin Liver Dis 5:219–257
5. Fernandez-Pineda I, Cabello-Laureano R (2014) Differential diagnosis and management of liver tumors in infants. World J Hepatol 27:486–495
6. Harman M, Nart D, Acar T y Elmas N (2015) Primary mesenchymal liver tumors: radiological spectrum, differential diagnosis, and pathologic correlation. Abdom Imaging 40:1316-1330.
7. Siddiqui MA y McKenna BJ (2006) Hepatic Mesenchymal Hamartoma a short review. Arch Pathol Lab Med 130:1567-1569.
8. Ishak KG, Goodman ZD y Sticker JT (2001) Tumors of the liver and intrahepatic bile ducts. Whashington, DC: Armed Forces Institute of Pathology; 71-79, Atlas of tumor Pathology; 3rd series, fascicle 31.
9. Yen JB, Kong MS y Lin JN (2003) Hepatic mesenchymal hamartoma. J. Pediatr Child Health 39:632-634.
10. Wada M, Ohashi E, Jin H y col. (1992) Mesenchymal hamartoma of the liver report of an adult case and review of the literature. Intem Med 31:1370-1375.
11. Bahador A, Geranizadeh B, Rezazadehkermanis M y Moslemi S (2014) Mesenchymal hamartoma mimicking hepatoblastome. Int J Org Transplant Med Vol 5(2).
12. Zheng J-M, Tao X, Xu A-M, Chen X-F, et al (2007) Primary and recurrent embryonal sarcoma of the liver: clinicopathological and immunohistochemical analysis. Histopathology 51:195-203.

13. Lenze F, Birkfellner T, Lenz P y col. (2008). Undifferentiated embryonal sarcoma of the liver in adults. *Cancer* 112(10):2274-82.
14. Stocker JT y Ishak KG (1978). Undifferentiated (embryonal) sarcoma of the liver: report of 31 cases. *Cancer* 42:336-48.
15. Weinberg AG y Finegold MJ (1983) Primary hepatic tumors of childhood. *Hum Pathol* 14:512.
16. Bisogno G, Pilz T, Perilongo G y col. (2002) Undifferentiated sarcoma of the liver in childhood: a curable disease. *Cancer*. 94(1):252–257.
17. Pachera S, Nishio H, Takahashi Y y col. (2008) Undifferentiated embryonal sarcoma of the liver: case report and literature survey. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 15(5):536–544.
18. Wei ZG, Tang LF, Chen ZM y col. (2008) Childhood undifferentiated embryonal liver sarcoma: clinical features and immunohistochemistry analysis. *J Pediatr Surg* 43(10):1912–1919.
19. Sakellaridis T, Panagiotou I, Georgantas T y col. (2006). Undifferentiated embryonal sarcoma of the liver mimicking acute appendicitis: case report and review of the literature. *World J Surg Oncol* 4(1):9–13.
20. Begueret H, Trouette H, Vielh P y col. (2001) Hepatic undifferentiated embryonal sarcoma: malignant evolution of mesenchymal hamartoma? Study of one case with immune-histochemical and flow cytometric emphasis. *J Hepatol* 34:178-179.
21. de Chadarevian JP, Pawei BR, Faeber EN y Weintraub WH (1994) Undifferentiated (embryonal) sarcoma arising in conjunction with mesenchymal hamartoma of the liver. *Mod Pathol* 7:490–494.
22. Lauwers GY, Grant LD, Donnelly WH y col. (1997). Hepatic undifferentiated (embryonal) sarcoma arising in a mesenchymal hamartoma. *Am J Surg Pathol* 21:1248–1254.
23. Ramanujam TM, Ramesh JC, Goh DW y col. (1999). Malignant transformation of mesenchymal hamartoma of the liver: Case report and review of the literature. *J Pediatr Surg* 34:1684–1686.

24. O'Sullivan MJ, Swanson PE, Knoll J y col. (2001). Undifferentiated embryonal sarcoma with unusual features arising within mesenchymal hamartoma of the liver; report of a case and review of the literature. *Pediatr Dev Pathol* 4:482–489.
25. Dehner LP, Ewing SL y Sumner HW. (1975). Infantile mesenchymal hamartoma of the liver. Histologic and ultrastructural observations. *Arch. Pathol.* 99, 379–382.
26. Edmondson HA (1956). Differential diagnosis of tumors and tumor-like lesions of liver in infancy and childhood. *Am. J. Dis. Child.* 91, 168–186.
27. Okeda R (1976). Mesenchymal hamartoma of the liver—an autopsy case with serial sections and some comments on its pathogenesis. *Acta Pathol. Jpn.* 26, 229–236.
28. Speleman F, De Telder V, De Potter KR, y col. (1989). Cytogenetic analysis of a mesenchymal hamartoma of the liver. *Cancer Genet Cytogenet* 40:29–32.
29. Mascarello JT y Krous HF (1992) Second report of a translocation involving 19q13.4 in a mesenchymal hamartoma of the liver. *Cancer Genet Cytogenet* 58:141–2.
30. Bove KE, Blough RI y Soukup S (1998) Third report of t(19q)(13.4) in mesenchymal hamartoma of liver with comments on link to embryonal sarcoma. *Pediatr Dev Pathol* 1:438–42.
31. O'Sullivan MJ, Swanson PE, Knoll J y col. (2001) Undifferentiated embryonal sarcoma with unusual features arising within mesenchymal hamartoma of the liver: report of a case and review of the literature. *Pediatr Dev Pathol* 4:482–9.
32. Rakheja D, Margraf LR, Tomlinson GE y col. (2004) Hepatic mesenchymal hamartoma with translocation involving chromosome band 19q13.4: a recurrent abnormality. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 153:60-63.
33. Rajaram V, Knezevich, Bove KE y col. (2007) DNA sequence of the translocation breakpoints in undifferentiated embryonal sarcoma arising in mesenchymal hamartoma of the liver harboring the t(11;19)(q11;q13.4) translocation. *Genes, Chromosomes and Cancer* 46:508-513.

34. Mathews J, Duncavage EJ y Pfeifer J (2013) Characterization of translocation in mesenchymal hamartoma and undifferentiated embryonal sarcoma of the liver. *Experimental and Molecular Pathology* 95: 319-324.
35. Bortolin-Cavaille ML, Dance M, Weber M y Cavaille J. (2009) C19MC microRNAs are processed from introns of large Pol-II, non-protein-coding transcripts. *Nucleic Acids Res.* 37, 3464–3473.
36. Elliott B, Richardson C y Jasin M (2005). Chromosomal translocation mechanisms at intronic alu elements in mammalian cells. *Mol. Cell* 17, 885–894.
37. Noguer-Dance M, Abu-Amero S, Al-Khtib M, y col. (2010). The primate-specific microRNA gene cluster (C19MC) is imprinted in the placenta. *Hum. Mol. Genet.* 19, 3566–3582.
38. Tsai KW, Kao HW, Chen HC y col. (2009). Epigenetic control of the expression of a primate-specific microRNA cluster in human cancer cells. *Epigenetics* 4, 587–592.
39. Mishra PJ y Merlino G. (2015) MicroRNA reexpression as differentiation therapy in cancer. *J. Clin. Invest.* 119:2119–2123.
40. Kwan JYY, Psarianos P, Bruce JP y col. (2016) The complexity of microRNAs in human cancer . *Journal of Radiation Research* 57: i106–i111.

ANEXOS



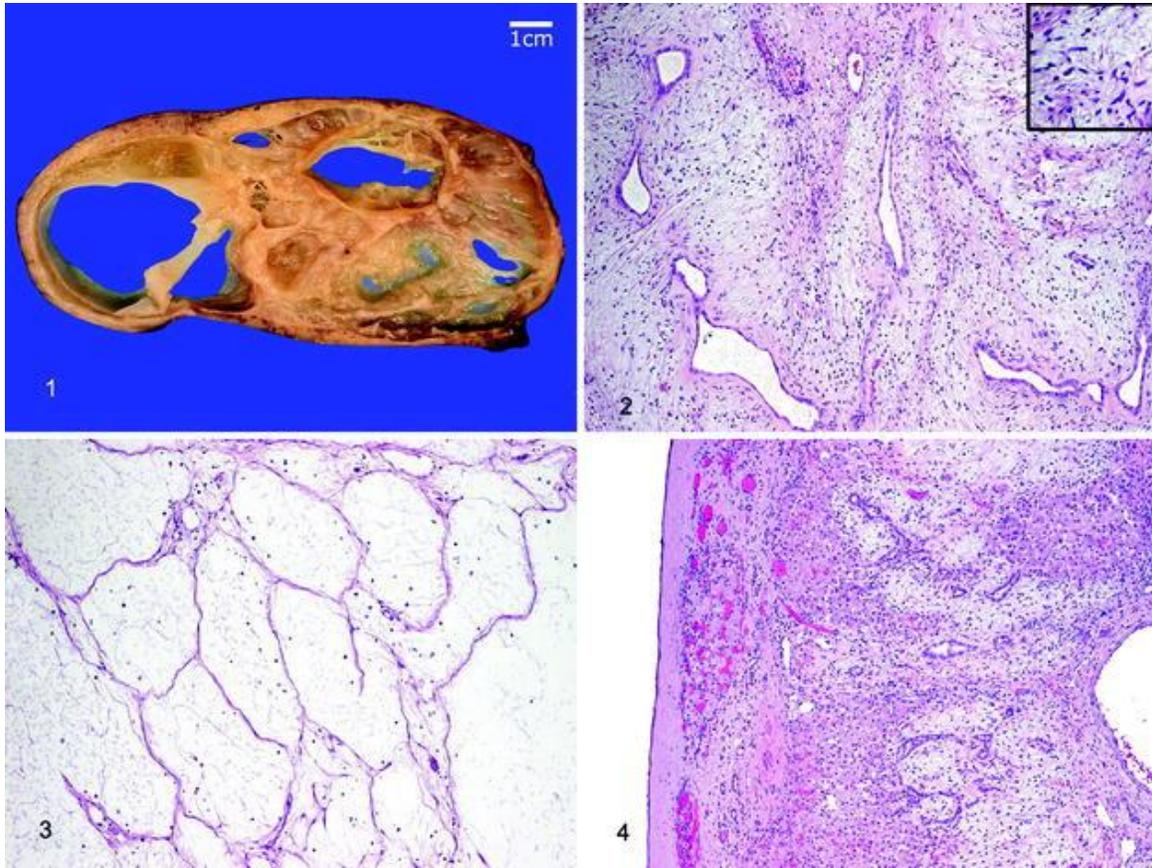
Anexo 1: Hamartoma mesenquimatoso de hígado

1. Superficie de corte de masa removida de 1058 g del segmento lateral derecho del hígado. Numerosos quistes llenos de material gelatinoso separados por tabiques, se observa tejido conectivo fibroso blanco.

2. Area con pequeño quiste demostrando la hipocelularidad, estroma edematoso con numerosos quistes sin epitelio. Notar el parénquima hepático atrapado y conductos biliares al azar a la izquierda.

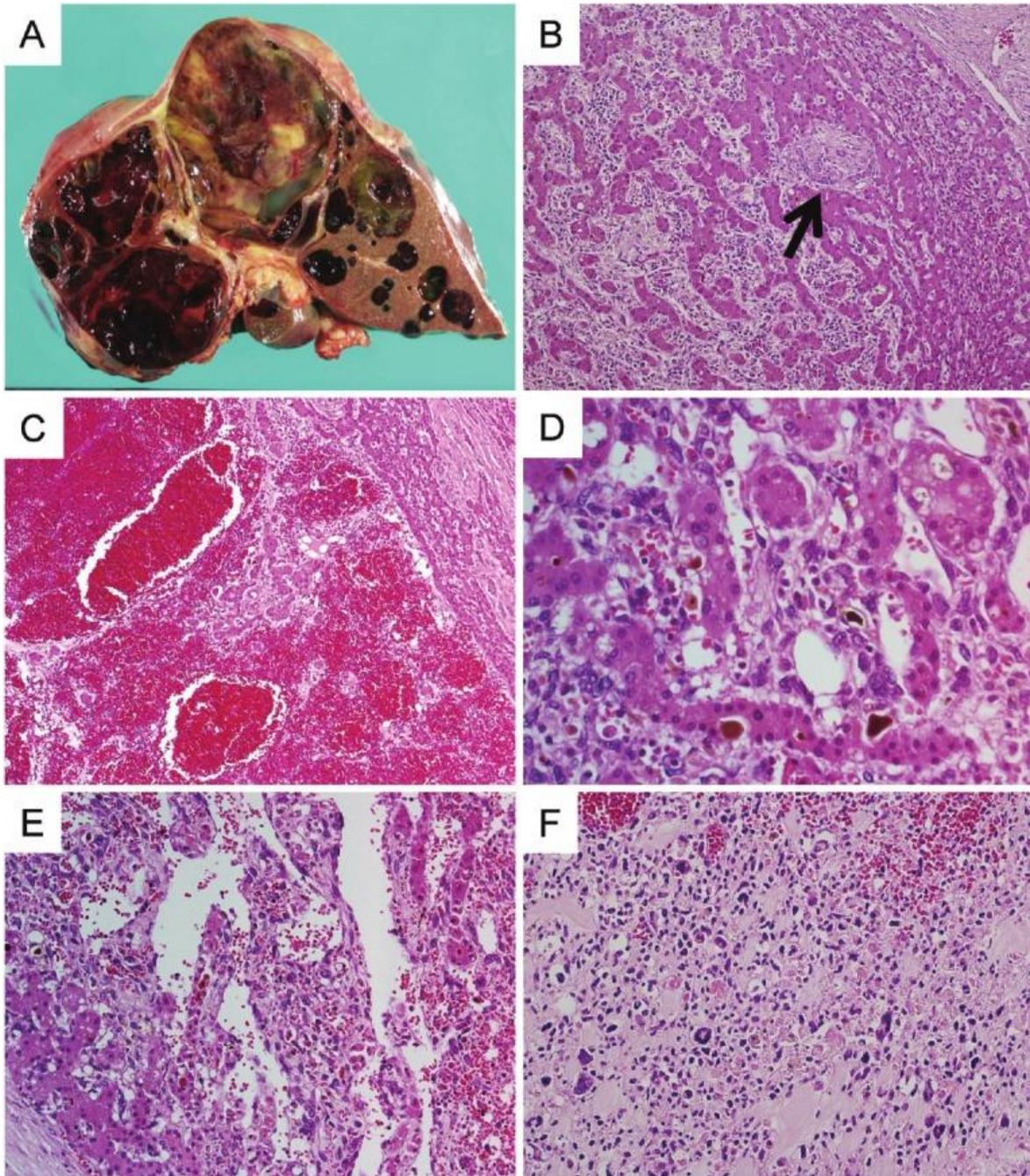
3. Cariotipo de hamartoma mesenquimatoso del hígado mostrando una anomalía de brazo largo del cromosoma 19.

4. Mayor aumento del cromosoma 19 separado de la metafase exhibiendo la deleción intersticial cercana 19q13.4.



Anexo 2: Hamartoma mesenquimatoso de hígado

1. Resección de lóbulo hepático derecho con quistes de varios tamaños.
2. Estroma mesenquimal mixomatoso con proliferación de conductos biliares. Entremezcladas, cohesivas, células mesenquimales.
3. Quistes sin epitelio de superficie definido.
4. Coronas de hepatocitos maduros con proliferación de conductos biliares en la periferia de la resección.



Anexo 3: Sarcoma embrional indiferenciado

A. Características Macroscópicas. La superficie de corte muestra múltiples lesiones quísticas, la mas grande mide 8 x 6 cm.

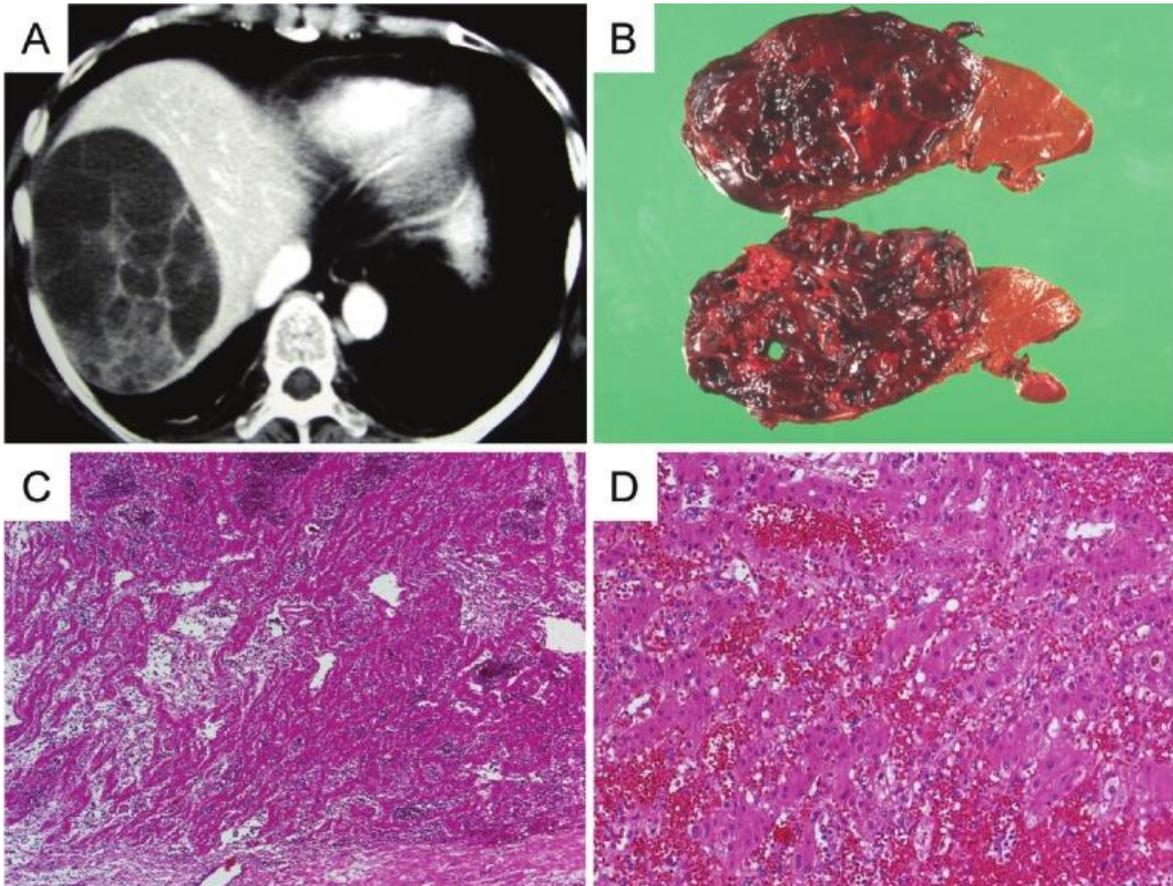
B. Se muestra células fusiformes proliferando entre cordones de hepatocito, con expansión sinusoidal y conductos biliares atrapados.

C. La lesión muestra congestión y hemorragia.

D. Células fusiforme bizarro que están entre los hepatocitos. Algunos hepatocitos muestran congestión biliar.

E. Espacios vasculares dilatados entre células tumorales y hepatocitos pre existentes.

F. No hay hepatocitos en la lesión metastasica de medula osea.



Anexo 4: Sarcome embrional indiferenciado

A. Tomografía computarizada. Muestra lesión quística (aproximadamente 10cm de diámetro) con tabique en el lóbulo derecho del hígado.

B. Características Macroscópicas de la lesión primaria. La superficie de corte es rojiza y suave, con degeneración.

C y D. Características microscópicas de la lesión primaria. Muestran capsula fibrosa que contiene cordones de hepatocitos con dilatación de sinusoides, congestión y hemorragia.