

# La importancia de los marcadores moleculares en el planteamiento terapéutico del niño con tumor cerebral

## *Molecular markers in the therapeutic strategies in children with astrocytoma*

Enrique López-Aguilar,<sup>1</sup> Ana Carolina Sepúlveda-Vildósola,<sup>2</sup> Hermilo de la Cruz-Yáñez,<sup>3</sup> Graciela Gascón-Lastiri<sup>4</sup>

### ▷ RESUMEN

**Introducción:** Los tumores cerebrales son el tipo de tumor sólido más común en la edad pediátrica. Sin embargo, aunque se han logrado avances en las últimas décadas, mismas histologías presentan un comportamiento biológico diferente en cada paciente. El conocimiento de los marcadores tumorales y de las vías de señalizaciones tanto intrínsecas como extrínsecas de la apoptosis, nos ha dado luz al mayor entendimiento del comportamiento biológico de éstos tumores lo cual nos permite brindar un tratamiento más dirigido con mejores probabilidades de respuesta.

**Marcadores moleculares:** La importancia de la expresión de antígenos de superficie como el CD-133, el Ki67, entre otros; así como, el conocimiento de algunos genes involucrados en la vía intrínseca de la apoptosis como el p53 y el BCL-2, nos ha hecho entender cómo se está comportando cada tumor específicamente en cada niño, lo cual nos permite planear de manera más adecuada, la estrategia terapéutica.

### ▷ ABSTRACT

**Introduction:** Brain tumors are the most common solid tumor in children. Although great advances have been achieved in the treatment and survival of these patients, histologically identical tumors have many different biological responses. Recently, other prognostic factors have been studied, such as molecular parameters, intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis, which have contributed to the knowledge of these tumors, and more individualized treatments.

**Molecular markers:** The expression of surface antigens such as CD-133 and Ki67 among others, as well as the knowledge of those genes involved in the intrinsic and extrinsic pathways of apoptosis such as p53 and BCL-2, has permitted a more comprehensive approach to each patient's disease, and enables us to give a more specific and individualized treatment.

**Discussion:** It is evident that histologic and radiologic parameters are not enough nowadays to stratify risk in pediatric brain tumors. Molecular markers must be included in order to correctly diagnose and treat these patients.

1Jefe de Servicio Oncología Pediátrica.

2Directora de Educación e Investigación en Salud.

3 Director General.

UMAE Hospital de Pediatría Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

4Oncóloga Pediatra.

Hospital General, Celaya, Gto. Secretaría de Salud.

Correspondencia: Dr. Enrique López Aguilar. Laboratorio de Investigación en Tumores Cerebrales. Instituto Mexicano del Seguro Social. Av. Cuauhtémoc 330. Col. Doctores 06720. Teléfono: 5627 6900, ext. 22528. Correo electrónico: elopezaguilar@hotmail.com

**Discusión:** Es evidente, que después de leer el presente artículo, no es suficiente contar con elementos histológicos y radiológicos para poder estratificar de manera más adecuada a un niño con un tumor cerebral, y que debemos contar con un perfil de marcadores moleculares completo para poder tratarlos.

**Palabras clave:** Parámetros moleculares, tumores cerebrales, niños, México.

**Keywords:** *Molecular parameters, brain tumors, children, Mexico.*

## ▷ ANTECEDENTES

Los tumores cerebrales son el tipo de tumor sólido más frecuente en la edad pediátrica.<sup>1</sup> A pesar de ello, pocos avances se han logrado en los últimos 40 años, por lo cual es tiempo de profundizar más en el conocimiento del comportamiento biológico de éstos tumores para poder plantearse una estrategia terapéutica más dirigida que pueda mejorar la sobrevida de éstos niños que lo padecen.<sup>2</sup>

La expectativa de vida de acuerdo a la SEER (*Surveillance, Epidemiology, End Result*) a los cinco años es de 56%; los de mejor pronóstico son los astrocitomas de bajo grado, en fosa posterior y los de peor pronóstico son aquellos con glioma del tallo y astrocitomas de alto grado<sup>3</sup> (80% y 56% de sobrevida a cinco años respectivamente).

No existen signos o síntomas patognomónicos de los tumores cerebrales, sino que inicialmente van en relación con el incremento de la presión intracraneal por masa ocupante, o bien por la obstrucción en la circulación del líquido cefalorraquídeo. Son frecuentes la cefalea de predominio matutino, vómitos en proyectil, que puede ser cíclicos u ocurrir diario por las mañanas;<sup>4</sup> en los lactantes se presenta aumento del perímetro cefálico.<sup>5</sup> La presencia de pérdida de balance en la función del tronco cerebral, como alteraciones en la coordinación de las extremidades superiores y afección a pares craneales, sugiere fuertemente tumor en el tallo cerebral.<sup>6-8</sup>

El diagnóstico se puede establecer claramente mediante un estudio de imagen por Resonancia Magnética, que nos permite definir claramente el sitio del tumor, así como su volumen, y de acuerdo con las características radiológicas, poder presumir una variante histológica. Sin

embargo, esto último se confirma únicamente mediante el estudio histopatológico de una muestra del tumor obtenido mediante biopsia, resección total o subtotal del mismo.

No obstante lo anterior, los avances en el entendimiento del comportamiento biológico de éstos tumores nos han demostrado que histologías similares pueden tener un comportamiento clínico diferente que varía completamente de un niño a otro e incluso diferente dependiendo de la localización del tumor; así pues, un ependimoma no se comporta igual si se presenta a nivel supratentorial que infratentorial, y un astrocitoma de bajo grado no se comporta igual si se origina en el cerebelo o en el tallo cerebral, tálamo o vías ópticas.

El tratamiento al momento actual es multidisciplinario, inicialmente con neurocirugía cuyos objetivos son: establecer el diagnóstico histopatológico, reducir el efecto de masa de la tumoración que ocasiona obstrucción, mejorar la circulación del líquido cefalorraquídeo y potencialmente buscar la cura del paciente mediante resección completa o cuando esto no sea posible logrando cito reducción quirúrgica.<sup>9</sup> La quimioterapia neoadyuvante, basada en que la barrera hematoencefálica es disfuncional en el área adyacente al tumor y permite el paso de la QT al tejido tumoral ha demostrado también grandes beneficios.<sup>10</sup> La radioterapia pretende lograr una muerte selectiva de las células tumorales, impidiendo la supervivencia de la clona celular y eliminado el potencial de esta a seguir creciendo y de enviar metástasis.<sup>11</sup> Asimismo, es fundamental la participación de un pediatra general, el médico de rehabilitación y el endocrinólogo ya que frecuentemente, estos pacientes pueden presentar algún síndrome neuroendocrino.<sup>9,12</sup>

## ▷ PARÁMETROS CLÍNICOS Y MOLECULARES

Los factores pronósticos de estos tumores pueden dividirse en:

1. Factores clínicos: la edad<sup>13</sup> (los menores de tres años tienen mal pronóstico debido a que no es posible utilizar la radioterapia como parte del manejo), la localización del tumor, el porcentaje de resección quirúrgica, la quimioterapia utilizada y el estado funcional de Karnofsky.
2. Histología (mal pronóstico para aquellas variantes anaplásicas y que expresen el Ki67 positivo).<sup>14</sup>
3. Factores moleculares<sup>15-17</sup>
  - a) Los oncogenes que están implicados en dos procesos celulares básicos que son: la transducción de la señal mitogénica (factores de crecimiento y proteínas de transmisión de señales) y la transcripción génica (proteínas reguladoras de la transcripción del ADN) y en los gliomas juegan un papel fundamental en el proceso de carcinogénesis, como son el gen PAX 5, las quinasas dependientes de ciclinas 4 (CDK4), y el gen MDM2 (*Murine Double Minute*).
  - b) Los factores de crecimiento (FC) celulares, son proteínas que en condiciones fisiológicas regulan el crecimiento y la diferenciación celular. La actividad de los factores de crecimiento puede estar aumentada básicamente a través de dos mecanismos: por un incremento del número de copias del gen que los codifica (amplificación génica), o bien por un aumento en la producción de proteína por el gen (sobreexpresión). La sobreexpresión de los factores de crecimiento en los tumores malignos se asocia; por lo general, a una mayor agresividad biológica. La sobreexpresión o amplificación génica del gen c-erb-B2 que codifica al EGFR (receptor del factor de crecimiento epidérmico) se presenta en 1% de los astrocitomas de bajo grado, 10% de los astrocitomas anaplásicos y 40% de los glioblastomas multiformes y se relaciona con un mal pronóstico. La sobreexpresión del gen PCAF (que codifica al factor asociado CBP, una histona acetiltransferasa)<sup>19</sup> podría representar un nuevo marcador molecular para tumores malignos del sistema nervioso central.
  - c) Genes supresores tumorales,<sup>17,19,20</sup> que cuando se encuentran afectados, son marcadores de peor pronóstico. La pérdida de la función de la proteína p53 es la alteración genética más frecuentemente identificada en tumores sólidos. La región cromosómica que codifica esta proteína, la 17p13, se encuentra alterada en 30% de los astrocitomas de cualquier grado de malignidad. El gen del retinoblastoma

(Rb) se localiza en el cromosoma 13 (13q14) y codifica la proteína pRb1 que regula la transición de G0/G1 a S durante el ciclo celular, su inactivación por delección o mutación ocurre en 20% de los astrocitomas anaplásicos y en 35% de los glioblastomas multiformes, y se correlaciona inversamente con las mutaciones del gen p16. El gen p16 se localiza en el brazo corto del cromosoma 9 (9p21) y codifica la proteína p16 que ejerce una regulación negativa sobre el ciclo celular al inhibir la acción de las quinasas dependientes de ciclinas CDK4 y CDK6 facilitando la acción reguladora de la pRb1. La delección 9p21 se puede identificar hasta en 80% de los glioblastomas multiformes. El gen PTEN/MMAC1 se localiza en el cromosoma 10 (10q23.3) y la pérdida de heterocigosidad (LOH) del cromosoma 10 es la alteración más frecuente de los glioblastomas. La expresión del gen p53 y/o MIB-1 LI >5% después de resección parcial o MIB-1 L1 >15% después de resección completa también han sido descritos como indicadores de agresividad del tumor y pobre pronóstico de la enfermedad.<sup>21</sup>

Otros hallazgos en tumores intracranianos son: aberraciones en el cromosoma 22; de las cuales, la delección 22q es la más frecuente,<sup>22,23</sup> ganancias en el cromosoma 1q asociadas con un comportamiento más agresivo, pérdidas en los cromosomas seis, asociada al desarrollo y/o progresión de los ependimomas en niños,<sup>24</sup> nueve y 13. Otros hallazgos son pérdidas en los cromosomas cuatro, 10, 11, 16, 17, 19 y 20.<sup>25</sup>

Es importante subrayar que en el caso de los tumores gliales, tanto la localización como sus alteraciones moleculares son diferentes tanto en niños como adultos, lo que sugiere rutas genéticas distintas en ambos tipos de tumores; por ejemplo, los glioblastomas multiformes (grado IV de la OMS) son más frecuentes en los adultos con una localización supratentorial predominantemente vs los astrocitomas de bajo grado que se presentan más frecuentemente en niños y con predominio infratentorial. Además, se presenta más frecuentemente amplificación/sobreexpresión de EGFR y mutación PTEN en adultos y en niños se observan más frecuentemente mutaciones del p53, así como LOH de los cromosomas 10q, 19q y 22q.<sup>26-29</sup>

A pesar de grandes avances en los últimos 15 años en la sobrevida de estos pacientes, el tratamiento de los gliomas permanece como un gran reto. La resección quirúrgica total de estos tumores infiltrantes es prácticamente imposible y su curso clínico está determinado principalmente por el comportamiento biológico de las células tumorales, que incluye el índice de crecimiento y su respuesta tanto a la quimioterapia como a la

radioterapia. Para predecir dicho comportamiento biológico, ya no basta, el estudio de la morfología tumoral por microscopía de luz, sino que se requiere de un panel completo de estudios de inmunohistoquímica, conocidos ahora como el nuevo portafolio de marcadores moleculares para el mejor entendimiento de éstos tumores.

Aún más, los progresos en biología molecular y genética molecular han mostrado ser un método complementario y eficaz para determinar el comportamiento biológico de los tumores cerebrales a través del estudio de la apoptosis.<sup>30,31</sup>

La apoptosis o muerte celular programada, que es una forma de suicidio celular genéticamente definida, ocurre de manera fisiológica durante la morfogénesis, la renovación tisular y en la regulación del sistema inmunitario. Se considera que la apoptosis es un mecanismo fisiológico de muerte que se desencadena por diversas señales, las cuales pueden ser fisiológicas o por estímulos exógenos ambientales. Las vías de señalización de la apoptosis son dos: la intrínseca y la extrínseca. La vía intrínseca (mitocondrial) se desarrolla cuando la célula está expuesta a un gran estrés como ocurre cuando se daña la cadena de DNA; la vía extrínseca (citoplasmática) es activada cuando algún ligando pro-apoptótico como Apo2L/TRAIL (familia de los Factores de Necrosis Tumoral) se une a un receptor pro-apoptótico como el DR4 y DR5.<sup>32</sup> Tanto la vía intrínseca como la extrínseca convergen en la activación de enzimas intracelulares denominadas caspasas, quienes finalmente llevan a la destrucción de las proteínas celulares y con esto, la muerte de la célula.<sup>33,34</sup>

El entendimiento de la apoptosis ha sentado las bases de nuevas terapias que pueden inducir la muerte de las células cancerosas o sensibilizarlas contra los agentes citotóxicos y la radioterapia.<sup>35</sup> Estos nuevos agentes incluyen aquellos para la vía extrínseca como el ligando del receptor uno del factor de necrosis tumoral y aquellos de la vía intrínseca como los de la familia BCL-2 como oligonucleótidos antisentido.<sup>36</sup> El fracaso en la inducción de la apoptosis constituye una de las principales causas de la resistencia a la quimioterapia en los tumores malignos.<sup>37</sup>

## ► DISCUSIÓN

Con base en que determinados hechos celulares pueden ser explicados por trastornos en la regulación de los genes responsables de la apoptosis, como es el caso de la transformación y progresión tumorales,<sup>38</sup> se postula que debe de existir una relación entre la subexpresión en las vías de la apoptosis y la presencia de alteraciones cromosómicas.

El conocimiento actual sobre la apoptosis, como mecanismo regulador y homeostático de los tejidos, ahora explica el desarrollo de tejido neoplásico en la mayoría

de los casos. Cualquier alteración o desbalance en éste mecanismo regulador, ya sea tanto en la vía extrínseca regulada por la familia del TNF (factor de necrosis tumoral y TRAIL) o la vía intrínseca mitocondrial, da como resultado el desarrollo de un tumor.

Recientemente se ha querido canalizar éste conocimiento a fin de desarrollar moléculas que intervengan o favorezcan el desarrollo o estímulo de la apoptosis para tratar varios tipos de cáncer en la edad pediátrica.

Con base en lo comentado, es evidente que el plantear una estrategia terapéutica para un niño con un tumor cerebral, va mucho más allá de la simplicidad de una valoración sustentada en elementos radiológicos e histológicos exclusivamente, sino que se requiere de un estudio integral e individualizado en cada caso, tanto desde el punto de vista clínico, como radiológico, histológico y molecular, con el fin de entender a fondo su comportamiento biológico y a partir de éste momento, poder dirigir de una manera más adecuada, un tratamiento específico y personalizado a cada niño.

## REFERENCIAS

1. Compendio del Registro Histopatológico de Neoplasias en México. Morbilidad, regionalización 1993-1996 y mortalidad. Tendencias 1985-1995, México. Secretaría de Salud. Dirección General de Epidemiología. 1998.
2. Kernohan JW, Mahoon RF. Stadification of the gliomas. Proc Staff Meet Mayo Clinic 1949;24:71-75.
3. Rorke LB, Gilles FH, Davis RL. Revision of the World Health Organization classification of brain tumors for childhood. Cancer 1985;56:1869-1886.
4. Starr A, Achar J. Brain system responses in neurologic disease. Arch Neurol 1975;32:761-768.
5. Halperin EC, Watson DM, George SL. Duration of symptoms prior to diagnosis is related inversely to presenting disease stage in children with medulloblastoma: A Pediatric Oncology Group study. J Neuropathol Exp Neurol 2000;59:867-865.
6. Omuro A, Leite C, Mokhtari K, Delattre J. Pitfalls in the diagnosis of brain tumours. Lancet. 2006;5:937-948.
7. Yang P, Berger P, Cohen M. Computed tomography and childhood seizure disorders. Neurology 1979;29:1084-1088.
8. Bloom H. Prospects for increasing survival in children with medulloblastoma: Present and future studies. Neurooncology 1979;1:245-260.
9. Cohen BH, Zeltzer PM, Boyett JM, et al. Prognostic factors and treatment results for supratentorial primitive neuroectodermal tumors in children using radiation and chemotherapy: A children Cancer Group randomized trial. J Clin Oncol 1995;13:1687-1696.
10. López-Aguilar E, Sepúlveda-Vildósola AC, Rivera-Márquez H, et al. Preirradiation ifosfamide, carboplatin and etoposide (ICE) for the treatment of high-grade astrocytomas in children. Childs Nerv Syst 2003;19:818-823.
11. Dohrmann GJ, Farewell JR, Flannery JT. Astrocytomas in childhood: A potential-based study. Surg Neurol 1985;23:64-68.
12. Rutkowski S, Bode U, Deinlein F, et al. Treatment of early childhood medulloblastoma by postoperative chemotherapy alone. NEJM 2005;352:978-986.
13. López-Aguilar, Cerecedo-Díaz, Sepúlveda-Vildósola, et al. Astrocitomas en pediatría. Factores pronósticos y sobrevida. Gac Med Mex 1996;133:231-235.
14. Kleihues P, Burger PC and Scheithauer BW. The new WHO classification of brain tumors. Brain Pathol 1993;3:255-268.
15. Muñoz J, Fan X, Inda MM, et al. Genética molecular de los astrocitomas. ANALES Sis San Navarra 2000;23:265-278.
16. Diedrich U, Lucius J, Bitterman HJ, et al. Loss of alleles in brain tumors: distributions and correlations with clinical course. J Neurol 1995;242:702-711.
17. Figarella-Branger D, Coulibaly B, Quilchini B, et al. Histological and molecular classification of gliomas. Rev Neurol 2008;164:505-515.
18. Armas-Pineda C, Arenas-Huerta F, Pérezpeña-Díazconti M, et al. Expression of PCAF, p300 and Gcn5 and more highly acetylated histone H4 in pediatric tumors. J Exp Clin Cancer Res 2007;26:269-76.

19. Chozik BS, Weicker MB, Pezullo JC, et al. Pattern of mutant p53 expression in human astrocytomas suggests the existence of alternate pathway of tumorigenesis. *Cancer* 1994;73:404-415.
20. Van de Kelft E. Molecular pathogenesis of astrocytoma and glioblastoma multiform. *Act Neurochir Wien* 1997;139:589-599.
21. Zamecnik J, Snuderl M, Eckschlager T, et al. **Pediatric intracranial ependymomas**: prognostic relevance of histological, immunohistochemical and flow cytometric factors. *Mod Pathol* 2003;16:980-991.
22. Carter M, Nicholson J, Ross F, et al. Genetic abnormalities detected in ependymomas by comparative genomic hybridization. *Br J Cancer* 2002;86:929-939.
23. Korshunov A, Neben K, Wrobel G, et al. Gene expression patterns in ependymomas correlate with tumor location, grade and patient age. *Am J Pathol* 2003;163:1721-27.
24. Kramer DL, Parmiter AH, Rorke LB, et al. Molecular cytogenetic studies of pediatric ependymoma. *J Neurooncol* 1998;37:25-33.
25. Biegel JA. Genetics of Pediatric Central Nervous System Tumors. *J Pediatr Hematol Oncol* 1997;19:492-501.
26. Nakamura M, Shimada K, Ishida E, et al. Molecular pathogenesis of pediatric astrocytic tumors. *Neuro Oncology* 2007;9:113-123.
27. Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005;64:479-489.
28. Smith JS, Alderete B, Minn Y, et al. **Localization of common deletion regions** on 1p and 19q in human gliomas and their association with histological subtype. *Oncogene* 1999;18:4144-4152.
29. Von Deimling A, Louis DN, Von Ammon K, et al. Evidence for a tumor suppressor gene on chromosome 19q associated with human astrocytomas, oligodendrogliomas and mixed gliomas. *Cancer Res* 1992;52:4277-4279.
30. Louis DN. A molecular genetic model of astrocytoma histopathology. *Brain Pathol* 1997;7:755-764.
31. Collins VP. Progression as exemplified by human astrocytic tumors. *Semin Cancer Biol* 1999;9:267-276.
32. Ashkenazi A. Targeting death and decoy receptors of the tumor-necrosis factor superfamily. *Nat Rev Cancer* 2002;2:420-430.
33. Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science* 1998;281:1312-1316.
34. Lavrik IN, Golks A, Krammer PH. Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *J Clin Invest* 2005;115:2665-2672.
35. Reed JC, Huang Z. Apoptosis pathways and drug targets. *Nature Rev Drug Discov* 2004;3:895-910.
36. Ghobrial IM, Witzig TE, Adjei AA. Targeting apoptosis pathways in cancer therapy. 2005;55:178-194.
37. Lowe SW, Lin AW. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis* 2000;21:485-495.
38. Ellis RE, Yuan J, Horvitz HR. Mechanisms and function of cell death. *Annu Rev Biol* 1991;7:663-672.