

I/188/91.

NEUROBLASTOMAS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGIA

Histología y Correlación con el Pronóstico

DRA. MARIA CONSUELO PARIS PINEDA
RESIDENTE DE PATOLOGIA

DRA. ELVIRA CASTRO DE PABON
PATOLOGA - INVESTIGADOR CIENTIFICO

SANTAFE DE BOGOTA
INSTITUTO NACIONAL DE CANCEROLOGIA

1.991

TABLA DE CONTENIDO

	pag.
1- INTRODUCCION	1
2- MATERIALES Y METODOS	3
3- RESULTADOS	11
4- DISCUSION	15
5- RESUMEN	26
6- BIBLIOGRAFIA	45

LISTA DE TABLAS

		pág.
TABLA 1.	CLASIFICACION PRONOSTICA (SHIMADA).	27
TABLA 2.	CLASIFICACION POR ESTADOS CLINICOS (EVANS).	27
TABLA 3.	SOBREVIDA POR EDAD.	28
TABLA 4.	DISTRIBUCION POR LOCALIZACION DEL TUMOR.	28
TABLA 5.	DISTRIBUCION POR ESTADO CLINICO.	29
TABLA 6.	SOBREVIDA POR ESTADO CLINICO.	29
TABLA 7.	DISTRIBUCION POR TRATAMIENTO.	30
TABLA 8.	DISTRIBUCION POR TIPO DE ESTROMA.	30
TABLA 9.	SOBREVIDA POR ESTROMA ESCASO DIFERENCIADO MAS EDAD.	31
TABLA 10.	SOBREVIDA POR MKI.	31
TABLA 11.	SOBREVIDA POR ESTROMA ESCASO DIFERENCIADO MAS MKI.	32
TABLA 12.	SOBREVIDA POR PRONOSTICO (SHIMADA).	32

LISTA DE FIGURAS

pág.

FIGURA 1.	Neuroblastoma con Abundante Estroma.	33
FIGURA 2.	Neuroblastoma con Escaso Estroma.	33
FIGURA 3.	Neuroblastoma con Abundante Estroma Bien Diferenciado.	34
FIGURA 4.	Neuroblastoma con Abundante Estroma Mixto.	34
FIGURA 5.	Neuroblastoma con Abundante Estroma Nodular.	35
FIGURA 6.	Neuroblastoma con Escaso Estroma Dife- renciado.	35
FIGURA 7.	Neuroblastoma con Escaso Estroma Indife- renciado.	36
FIGURA 8.	MKI Bajo.	36
FIGURA 9.	MKI Intermedio.	37
FIGURA 10.	MKI Alto.	37
FIGURA 11.	Sobrevida Global.	38
FIGURA 12.	Sobrevida por Sexo.	39
FIGURA 13.	Sobrevida por Edad.	40
FIGURA 14.	Sobrevida por Estado Clínico.	41
FIGURA 15.	Sobrevida por Catecolaminas (VMA).	42
FIGURA 16.	Sobrevida por Pronóstico Esperado.	43
FIGURA 17.	Neuroblastoma Metastásico a Pulmón.	44
FIGURA 18.	Neuroblastoma Tumor Primario que metas- tatizó a Pulmón.	44
FIGURA 19.	Neuroblastoma con Abundante Estroma Bien Diferenciado con Infiltrado Lin- focítico.	45

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

Cir	Cirugía
H y E	Hematoxilina y Eosina
HVA	Acido Homovanílico
INC	Instituto Nacional de Cancerología
MHFG	3-Metoxi-4-Hidroxifenilglicol
MKI	Indice Mitosis cariorrexis
PAS	Acido Periódico de Schiff
Quim	Quimioterapia
Rad	Radioterapia
SNC	Sistema Nervioso Central
VMA	Acido Vanilil Mandélico
<	Menor
>	Mayor
P	Probabilidad

INTRODUCCION

El neuroblastoma es el tumor maligno sólido extracraneal más frecuente en la infancia y probablemente el de comportamiento biológico y respuesta al tratamiento menos predecibles. En contraste con otros cánceres de la niñez, la sobrevida de los pacientes con neuroblastoma no ha mostrado el dramático incremento alcanzado con el uso de la quimioterapia.

Por otra parte, a diferencia de otros tumores en los cuales la gradación histopatológica es un método tradicional para valorar su potencial agresividad, en el neuroblastoma, a pesar de múltiples intentos realizados por diferentes autores (1,3,15,17,19,27), no se ha logrado establecer una clasificación, basada en la diferenciación del tumor, para valorar el pronóstico. Por esta razón se da más importancia a otras determinantes pronósticas no morfológicas como son la edad al diagnóstico, el estado clínico, los niveles de marcadores tumorales, etc. (8,11,12,13,29) y el papel del patólogo se limita a establecer que la naturaleza de un tumor de célula pequeña, redonda y azul, sea un neuroblastoma, como actualmente lo hacemos en nuestro departamento.

Sin embargo, en 1.984, el doctor Hiroyuki Shimada (24) propuso una clasificación histológica simple y objetiva que incluye características morfológicas relativamente fáciles de reconocer y definir con la introducción novedosa de calificar también la edad del paciente en la creación de subgrupos pronósticos. Este sistema ha mostrado ser válido y reproducible con una excelente correlación con el pronóstico, lo cual nunca antes se había logrado con una clasificación histológica.

Es nuestro interés, aplicar este sistema morfológico reclasificando los neuroblastomas diagnosticados en el INC y determinar su utilidad pronóstica. De lograr resultados satisfactorios, los patólogos aportaríamos algo más que el diagnóstico de neuroblastoma, adelantándonos a la evolución de la enfermedad, para que los clínicos puedan aplicar el tratamiento adecuado y posiblemente desarrollar nuevas estrategias terapéuticas.

MATERIALES Y METODOS

Se revisaron todos los casos diagnosticados en el INC en un lapso de 18 años (1.970 y 1.988), en pacientes menores de 16 años, como neuroblastoma, ganglioneuroblastoma (excluyendo ganglioneuroma) y tumor de célula pequeña, redonda y azul, en los que se planteó clínica y/o histológicamente este diagnóstico, como diferencial. Para tal fin, se utilizaron los archivos de los departamentos de Patología, Pediatría y Estadística, encontrando un total de 58 casos de los cuales 29 fueron remitidos de otras instituciones del país. Solamente 28 cumplieron con los criterios que determinamos para su inclusión en nuestra serie:

- Histología, con material obtenido del tumor primario o metastásico, previo al tratamiento, suficiente para clasificación.
- Historia clínica con seguimiento mínimo de tres años.

Los casos excluidos, correspondían a: historias clínicas incompletas (11 casos); diagnóstico diferente de neuroblastoma después de seguimiento clínico (3 casos: (2) rhabdomyosarcomas, (1) linfoma); sin diagnóstico confirmatorio (2 casos); sin material histológico (3 casos); con material mal preservado o insuficiente para clasificación o diagnóstico (11 casos).

1. CONSIDERACIONES HISTOPATOLÓGICAS

El punto de vista macroscópico, se estudió en descripciones quirúrgicas, informes histopatológicos y protocolos de autopsia valorando el tamaño, presencia de nódulos, hemorragia, necrosis y calcificación del tumor.

El estudio microscópico, se hizo en forma ciega por cada uno de nosotros, en preparaciones de biopsias o especímenes quirúrgicos de tumores primarios o metastásicos (6, 7), fijados en formol al 10%, incluidas en parafina y coloreadas con H&E, utilizando entre 1 y 12, con un promedio de 3 cortes por caso. Coloraciones histoquímicas (PAS con y sin diastasa, RETICULO) y/o inmunohistoquímicas (S-100, ENOLASA NEURONAL ESPECÍFICA, NEUROFILAMENTOS Y PROTEINA ASOCIADA A MICROTUBULOS), no fueron utilizadas, por no contar con los bloques de parafina en la gran mayoría de los casos y el método que vamos a desarrollar (SHIMADA, descripción original) no requiere de estas.

EL sistema de SHIMADA (24), clasifica inicialmente los neuroblastomas en dos grupos dependiendo de la presencia o no de un estroma Schwanniano semejando un tumor neurogénico periférico; de esta forma se reconocen, primero, neuroblastomas con abundante estroma y con escaso estroma. Los neuroblastomas con abundante estroma (Figura

1), se caracterizan por un extenso crecimiento de elementos Shwannianos y otros elementos de soporte. Los tumores de este grupo han sido llamados ganglioneuroblastomas o ganglioneuromas inmaduros. Los neuroblastomas con escaso estroma (Figura 2), se caracterizan por un crecimiento difuso e irregular de células neuroblásticas, separadas por delgados septos de tejido fibrovascular. Este grupo corresponde al neuroblastoma clásico y al llamado ganglioneuroblastoma difuso.

Una vez establecido el tipo de estroma, se analizan características especiales de cada grupo, para determinar subgrupos histológicos específicos.

En el neuroblastoma con abundante estroma, se reconocen tres subgrupos:

- Bien diferenciado (Figura 3): se encuentran escasos neuroblastos, homogéneamente distribuidos en un estroma ganglioneuromatoso dominante. Estas células pueden formar pequeños agregados, pero no forman nidos claramente definidos.
- Mixto (Figura 4): se encuentran neuroblastos formando nidos microscópicos, separados por un "halo" acelular, del estroma adyacente.
- Nodular (Figura 5): caracterizado por la presencia de uno o más nódulos macroscópicos del clasificado como

"neuroblastoma con escaso estroma", atrapados en una matrix madura. Usualmente el nódulo se observa macroscópicamente como un foco hemorrágico y microscópicamente con un margen bien delimitado o encapsulado. También se describen como nodulares, aquellos tumores primarios puramente ganglioneuromatosos con metástasis de morfología de neuroblastoma con escaso estroma.

En el neuroblastoma con escaso estroma, se valoran dos parámetros histológicos, el grado de diferenciación y la morfología nuclear, y un parámetro clínico, la edad del paciente al momento del diagnóstico, para determinar subgrupos.

Una célula tumoral, se considera "diferenciada", cuando presenta agrandamiento nuclear, agrandamiento y eosinofilia citoplasmática, bordes bien definidos y presencia de procesos citoplasmáticos de apariencia fibrilar. Con este criterio los tumores con escaso estroma se han dividido en dos subgrupos:

-Neuroblastoma con histología diferenciada (Figura 6): compuesto por una mezcla de células neuroblásticas en diferentes estados de maduración con más de 5% de población diferenciada.

- Neuroblastoma con histología indiferenciada (Figura 7): compuesto casi completamente por neuroblastos inmaduros con menos del 5% de población diferenciada.

El segundo factor histológico a estudiar fue la morfología nuclear. Debido a la dificultad clásicamente observada en la diferenciación entre verdaderas figuras mitóticas y fragmentos nucleares agrupados en células muertas, núcleos lobulados o malformados, Shimada introduce el Índice Mitosis Cariorrexis (MKI), que se define como la suma del número de mitosis y/o cariorrexis sobre cinco mil células contadas en campos de gran aumento al azar, en áreas no necróticas. Con este segundo criterio, se conforman otros tres subgrupos de tumores con escaso estroma:

- Neuroblastoma con MKI "bajo": Menos de 100 mitosis/cariorrexis por 5.000 células.(Figura 8).
- Neuroblastoma con MKI "intermedio": Entre 100 y 200 mitosis/cariorrexis por 5.000 células.(Figura 9).
- Neuroblastoma con MKI "Alto": Con más de 200 mitosis/cariorrexis por 5.000 células.(Figura 10).

El parámetro clínico incluido fue la edad del paciente al diagnóstico del tumor, definiéndose tres subpoblaciones:

- Niños menores de 1.5 años.

- Niños entre 1.5 y 5 años.
- Niños mayores de 5 años.

Tomando todos estos factores Shimada define dos grupos pronósticos: neuroblastomas con histología favorable y neuroblastomas con histología desfavorable. (Tabla 1).

En el artículo original de esta clasificación (24), Shimada utilizó material histológico únicamente de los tumores primarios sin tratamiento previo. En este estudio, utilizamos material histológico de tumores primarios en 18 casos y de metástasis en 10 casos (hueso maxilar (1), ganglio linfático (7), piel (2)), ya que se ha demostrado en estudios posteriores (6, 7) la validez de esta clasificación en material metastásico.

Todos los criterios histológicos descritos por Shimada, fueron aplicados de acuerdo a la descripción original, excepto la forma de calcular el MKI. El dispendioso proceso de contar 5.000 células ha sido recalcado por diferentes autores (6, 7, 10), incluyendo a Shimada, quien afirma que después de tener experiencia, podía reconocer fácilmente estos subgrupos sin utilizar el procedimiento formal.

Nosotros encontramos entre 300 y 700 células (con un promedio de 500) por campo de mayor aumento, en varios tumores; esto daría un recuento final aproximado de 5.000 células al revisar diez campos; por esta razón calculamos

el MKI contando el número de mitosis/cariorrhexis por diez campos de mayor aumento en cada lámina histológica.

Después de clasificar histológicamente los tumores, determinamos el pronóstico esperado según Shimada para cada caso individual.

2. CONSIDERACIONES CLINICAS

En la evaluación de las historias clínicas, se consideraron los siguientes parámetros:

- Edad del paciente en el momento del diagnóstico, agrupadas en las tres poblaciones ya mencionadas.
- Sexo.
- Antecedentes patológicos personales y familiares.
- Síntomas y signos.
- Localización del tumor primario, supra e infradiaphragmáticos.
- Estado clínico en el momento del diagnóstico, según el sistema de Evans.(12, 13).(Tabla 2).
- Valoración cualitativa de excreción urinaria de catecolaminas al momento del diagnóstico: ácido vanililmandélico (VMA) y ácido homovanílico (HVA). No utilizamos la valoración cuantitativa, por la variación que existe en los datos normales según la técnica empleada.

- Tratamiento.
- Evolución, con un seguimiento mínimo de tres años, hasta la fecha de muerte o pérdida de control.

3. CONSIDERACIONES ESTADÍSTICAS

Para el análisis estadístico (2, 9) se utilizó el método de "producto límite" de Kaplan y Meier a intervalos uniformes de tiempo hasta por treinta y seis meses, comparando en forma individual: la edad de presentación de la enfermedad, el sexo, la localización del tumor primario, el estado clínico, los niveles de catecolaminas, la clasificación pronóstica (Shimada), y tratamiento, con la sobrevida.

RESULTADOS

De los 28 pacientes de nuestra serie, encontramos una tasa de sobrevida global del 35% a 36 meses (Figura 11); 16 pacientes murieron por enfermedad progresiva; 1 paciente sin tumor residual murió en sepsis secundaria a inmunosupresión post-quimioterapia; 1 paciente falleció cinco años después del diagnóstico a consecuencia de una recurrencia tardía de neuroblastoma a nivel del SNC ; 2 pacientes terminales, se perdieron de control al mes del diagnóstico. Ocho pacientes se encuentran vivos y sin evidencia de enfermedad evolutiva hasta la fecha.

Discriminando los distintos factores pronósticos, en forma individual encontramos:

- SEXO. No hay diferencia significativa. (Figura 12).
- EDAD. Se observa diferencia entre la tasa de sobrevida de los pacientes menores y mayores de 5 años de edad, siendo ésta significativamente baja en el último grupo, desde los seis meses de seguimiento, tanto que a los 18 meses todos habían fallecido. Entre los pacientes menores de 5 años, encontramos una menor sobrevida en aquellos mayores de 1.5 años, desde los 18 meses de seguimiento. (Tabla 3 y Figura 13).

- ANTECEDENTES PATOLOGICOS FAMILIARES Y PERSONALES. Ninguno estadísticamente significativo.
- SIGNOS Y SINTOMAS. Además de síntomas generales no específicos como anorexia, distensión abdominal y fiebre se encontró presencia de masa abdominal palpable en 20 casos, protrusión ocular en tres, masas múltiples de piel en tres, adenopatías múltiples en tres y parálisis de miembros inferiores en dos casos. En dos pacientes la enfermedad fué congénita. El dato de hipertensión arterial, no fué documentados en las historias clínicas. Estos parámetros no fueron estadísticamente significativos desde el punto de vista pronóstico.
- LOCALIZACION DEL TUMOR PRIMARIO. La tabla 4 muestra la distribución de los tumores según su localización, supra o infradiaphragmática; el 89% de ellos fueron retroperitoneales o de suprarrenal, por lo que no pudimos establecer correlación pronóstica de éstos con los mediastinales.
- ESTADO CLINICO. (Tablas 5 y 6). Para el análisis pronóstico, hicimos dos grupos, el primero conformado por los estados I, II y IVs y el segundo por los estados III y IV; siendo altamente significativa la mejor sobrevida del primer grupo. (Figura 14).

- NIVELES URINARIOS DE CATECOLAMINAS. El VMA se valoró en 22 de nuestros 28 pacientes, (seis nunca fueron explorados bioquímicamente); la mitad tenían títulos elevados y en éstos se encontró una menor sobrevida, estadísticamente significativa ($p < 0/05$). (Figura 15). La dosificación de HVA se efectuó en 14 casos, no fué paralela a los datos de VMA y su efecto en la sobrevida no tuvo significancia.
- TRATAMIENTO. Los tratamientos efectuados, no fueron uniformes y por tanto no pudieron ser correlacionados pronósticamente. (Tabla 7).
- CLASIFICACION HISTOLOGICA. Evaluamos los tumores y en forma independiente cada uno de los rasgos morfológicos:
 - * Por estroma (Tabla 8): el 79% de los tumores son de escaso estroma e histología diferenciada. Por esta razón, no se pueden correlacionar los diferentes grupos histológicos, en relación con su comportamiento biológico. Sin embargo, al evaluar este subgrupo de 22 casos, en relación a la edad, encontramos un pésimo pronóstico en los niños mayores de cinco y una mejor sobrevida en los menores de 1.5 años, después de los 18 meses de seguimiento. (Tabla 9). Una paciente de tres meses de edad, perteneciente a este grupo de lesiones, con un

estado clínico IVs, presentó "maduración a ganglioneuroma", de la única lesión residual, dos años después del diagnóstico inicial y post-quimioterapia.

Los tres pacientes con tumores de escaso estroma e histología indiferenciada, fallecieron antes de dos meses de seguimiento.

Entre los pacientes con tumores de abundante estroma encontramos un representante de cada subgrupo histológico; los clasificados como bien diferenciado y mixto, están vivos y libres de enfermedad. El clasificado como nodular, falleció a los 18 meses del diagnóstico, por enfermedad evolutiva.

- * Por MKI (Tabla 10): la valoración de este dato en forma individual con la sobrevida no fue significativa, pero su análisis en los tumores con escaso estroma y diferenciados (única comparación que pudimos realizar por el número de casos), demostró una mejor sobrevida en los que tenían un MKI menor de 100.(Tabla 11).

CLASIFICACION PRONOSTICA.(Shimada).(Tabla 12 y Figura 16): Observamos diferencias altamente significativas en las tasas de sobrevida de los pacientes clasificados como de histología favorable en relación con los de histología desfavorable, a partir de los doce meses de seguimiento.

DISCUSION

Siempre se ha planteado el interrogante de cuándo la diferenciación o cualquier otro rasgo histopatológico, en un neuroblastoma, provee una información pronóstica estadísticamente significativa y clínicamente importante. En 1.914, Wahl (cit. 10) fué uno de los primeros investigadores que sugirió una secuencia de diferenciación en los tumores neuroblásticos.

Desde el descubrimiento de la transformación espontánea de un neuroblastoma a ganglioneuroma por Cushing y Wolbach (cit. 10) en 1.927, muchos investigadores han publicado esquemas de gradación, haciendo énfasis en la citomorfología indicativa de maduración neuroblástica. Otros hallazgos histológicos como son necrosis, hemorragia, invasión vascular e infiltrados linfoides también han sido evaluados para determinar su posible efecto en el pronóstico.

En 1.947 Stout (cit.10) realizó su estudio sobre ganglioneuromas e identificó tres categorías básicas: el ganglioneuroma completamente diferenciado, el ganglioneuroma con una población difusa de células ganglionares con maduración incompleta y un tipo compuesto constituido por pequeños nódulos de neuroblastoma rodeados por áreas de ganglioneuroma

típico. Esta aproximación histológica ha sido una de las más importantes ayudas para el estudio de los ganglioneuroblastomas.

En 1.951 Poore (cit. 10) identificó uno de los problemas principales en la evaluación por grado histológico, la gran variabilidad del patrón microscópico y describió tres tipos de células tumorales: una célula inmadura, pequeña, hipercromática, que recuerda el linfocito; una célula grande oval o fusiforme, con núcleo pálido, citoplasma evidente y procesos fibrilares; finalmente una célula grande con características ganglionares, con las que intentó aplicar el método de Broders. En 1.956 Horn, utilizando los criterios de Poore, clasificó los neuroblastomas en bien diferenciados, intermedios e indiferenciados, con unas tasas de sobrevida de 80%, 40% y 12.5% respectivamente.(cit.10).

En 1.968 Beckwith y Martin (3) propusieron un sistema basado en el porcentaje de elementos diferenciados presentes en un tumor dado, definiendo diferenciación como agrandamiento nuclear, agrandamiento citoplasmático y límites celulares claros, mayor afinidad por la eosina y extensiones nerviosas, identificando cuatro grados:

- Grado I, predominantemente diferenciado, con más del 50% de diferenciación, con una sobrevida del 100%.

- Grado II, con 5-50% de diferenciación y una sobrevida del 75%.
- Grado III, con menos del 5% de diferenciación y una sobrevida del 32%.
- Grado IV, sin neurogénesis y con una sobrevida del 4%.

La conclusión de estos autores fué que la diferenciación o el grado de maduración probablemente no cuenta para un desenlace más favorable del neuroblastoma en la infancia.

En 1.971 Makinen (19) estudió la posible influencia de una mínima diferenciación celular en el pronóstico, encontrando una alta correlación entre la presencia de células ganglionares maduras y una evolución favorable, otros factores de importancia fueron invasión vascular, calcificación, encapsulación, agregados celulares, formación de rosetas y hemorragia; no la halló con el conteo mitótico.

En 1.973 Gitlow (cit. 15) examinó los patrones de excreción de catecolaminas y sus metabolitos, concluyendo que la relación entre la presencia de diferenciación celular y bajos niveles de excreción de HVA era significativa. Desde el punto de vista histológico asoció con un pronóstico favorable la diferenciación neuroblástica, el hallazgo de células ganglionares y la formación de neurofibrillas. No encontró significancia

con relación al número de mitosis, necrosis o hemorragia tumoral.

En 1.974 Huges (17) estudió la interrelación entre la edad al momento del diagnóstico, el estado clínico y la diferenciación morfológica e identificó tres grados histológicos, encontrando una diferencia altamente significativa entre la sobrevida a tres años del grado I - 69% (mezcla de células ganglionares maduras y neuroblastos (indiferenciados) y los grados II - 9% y III - 6% neuroblastos parcialmente diferenciados o neuroblastos indiferenciados). Ningún grado menor a la diferenciación ganglionar completa, tenía un efecto favorable en el pronóstico. Dos estudios posteriores (Hassenbusch, 1.976 y Thomas, 1.984) (27), confirmaron estas conclusiones.

En 1.983 Sanstedt (cit. 10), evaluó la diferenciación celular, los patrones de crecimiento y los cambios degenerativos y propuso un sistema de gradación basado en el porcentaje de formación neurofibrilar. Los análisis estadísticos demostraron una asociación moderada entre los neuroblastomas con gran diferenciación neurofibrilar y la sobrevida, pero se cuestionó su importancia pronóstica. No halló correlación con el estado clínico y la edad.

En 1.984 Shimada (24) propuso su clasificación basada en el concepto de que existe una secuencia de maduración ordenada de las células neuroblásticas a células ganglionares y a células de Schwann. En los niños menores de 18 meses, la maduración hacia estos elementos no es aún esperada y el único hallazgo histológico desfavorable es un MKI alto. Después de esta edad, debe comenzar la diferenciación neuronal, por lo cual, un tumor indiferenciado en niños mayores de 18 meses, es de mal pronóstico. La frecuencia de anomalías nucleares también debe disminuir proporcionalmente al crecimiento del paciente, de 200/5.000 células a 100/5.000. El desarrollo de células de Schwann es más lento, pero es obligatorio en los niños que han alcanzado los cinco años de edad; por esta razón todos los tumores con escaso estroma, en este grupo de pacientes, son de pronóstico desfavorable independiente de la maduración o del MKI. También es de esperar que todos los tumores con abundante estroma ocurran en niños mayores, por consiguiente la edad no se relaciona con los diferentes subgrupos histológicos. El subtipo nodular, está caracterizado por un nódulo de menor maduración (desdiferenciación), considerado como un foco de crecimiento maligno clonal que ha notado la secuencia de maduración apropiada (10).

En su estudio de 314 casos, Shinada (24) encontró una tasa de sobrevida global del 51% a dos años, una de las más altas en la literatura, con tasas de sobrevida del 100% para tumores estroma abundante bien diferenciados, del 92% para los mixtos, del 18% para el nodular, 36% para los tumores con escaso estroma indiferenciados y del 72% para los diferenciados. En nuestra serie, la tasa de sobrevida global fue del 35% a tres años, que es un poco más alta que las descritas en otras series (6, 11,29) en donde han obtenido un promedio del 25% a dos años. Utilizamos un seguimiento mínimo de tres años, porque a pesar de que se ha aceptado en forma general que dos años es un lapso suficiente para separar pacientes sobrevivientes de los que no lo son, (6, 7, 10, 24) parece ser que los protocolos recientes de tratamiento han mostrado tiempos de sobrevida más largos (6). Sin embargo, ninguno de los pacientes fallecidos por enfermedad evolutiva (excepto el que presentó recurrencia tardía), vivió más de 18 meses y tampoco contamos con protocolos de tratamiento estandarizados para poder evaluar su efecto.

Con relación a la modificación que hicimos del estudio original de Shimada, utilizando material metastásico, pudimos comprobar en los casos de autopsia, que la imagen morfológica del tumor primario no varió sustancialmente con la del metastásico (Figuras 17 y 18) por lo cual, como

ya lo han informado otras series (6, 7, 10), este tipo de material es útil para la clasificación histológica. En cuanto al conteo de MKI, cabe anotar que el principio de considerar tanto las células cariorréticas como las mitosis, es más importante, que la técnica utilizada para su cálculo. Teniendo en cuenta el promedio de células que encontramos en cada campo de mayor aumento, aconsejamos contar el MKI en diez de ellos. Otra consideración histológica que queremos resaltar, es la presencia en los tumores con abundante estroma, de infiltrado linfoide, que ha sido interpretado (19) como respuesta de defensa del huésped contra el tumor; pero que para el patólogo puede crear confusión al interpretarlas, como nidos de células neuroblástica de las observadas en el subgrupo mixto (Figura 19).

Aunque el reducido número de casos, en cada subgrupo histológico impidió determinar la influencia exacta de la interacción que tienen en conjunto los diferentes parámetros histológicos, comprobamos, al analizar la sobrevida por pronóstico esperado según Shimada (favorable y desfavorable), que este sistema se correlaciona en forma excelente con el comportamiento biológico del neuroblastoma, casi de la misma forma en que lo hacen los parámetros clínicos clásicos. La edad al momento del diagnóstico y el estado clínico son

definitivamente las variables pronósticas más importantes; el 80% de los niños menores de un año de edad y todos los clasificados como estados I, II o IVs están vivos y libres de enfermedad residual.

Característicamente los neuroblastomas son productores de catecolaminas y sus metabolitos, principalmente VMA, HVA y MHFG; uno o más de éstos están elevados en la orina de aproximadamente el 85% de los pacientes; a pesar de esta actividad secretora, menos del 10% clínicamente desarrollan hipertensión arterial (4, 10,11,19). El aumento real puede no ser tan significativo como su variación durante el tratamiento; niveles persistentes o en aumento sugieren una enfermedad residual. Al parecer una elevación marcada del VMA se relaciona con un tumor menos diferenciado que es incapaz de completar la conversión bioquímica a norepinefrina, asociándose a un mal pronóstico (6). Aunque no se ha investigado a fondo la relación de la elevación de los niveles de catecolaminas con el pronóstico, encontramos relación entre niveles elevados de VMA al momento del diagnóstico y una disminución en la sobrevida. Este resultado debe ser interpretado cuidadosamente en espera confirmación posterior.

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, se ha logrado definir un perfil para el neuroblastoma que incluye reactividad para la proteína S-100, enolasa neuronal

específica, neurofilamentos y proteína asociada a microtúbulos, pero aún existe una falta de especificidad tanto del S-100 como de la enolasa (6, 20, 21, 30). Para propósitos pronósticos, Shimada (25) ha descrito una mayor sobrevida en los tumores indiferenciados S-100 positivos y otros han sugerido que el contenido de enolasa en un tumor neuroblástico, puede ser usado como marcador de diferenciación; estas conclusiones son aún sujeto de controversia.

Otras técnicas que no están aún a nuestro alcance y que pueden ser útiles en la evaluación pronóstica del neuroblastoma son la citometría de flujo y los estudios citogenéticos. Se ha encontrado relación entre el contenido de DNA y MKI, donde tumores con células euploides y en fase proliferativa tiene un peor pronóstico que los de células aneuploides y crecimiento lento (cit. 10). Desde el punto de vista citogenético la presencia de cromosomas "dobles diminutos" y la amplificación del gen N-myc son los defectos más frecuentemente encontrados; se ha demostrado que este último no está amplificado en los estados clínicos I y II, de buen pronóstico, pero que amplificaciones de 3 a 300 veces se encuentran en el 50% de los pacientes con estados III y IV. (5, 14, 16, 18, 13, 28) En general la interpretación de esta amplificación varía, pero hay consenso en que este hallazgo es un signo

de progresión tumoral; desafortunadamente no es específico de neuroblastoma y puede observarse en otras neoplasias. El 70% de los neuroblastomas tienen un rearrreglo estructural del cromosoma 1p y se han descrito trisomías en los brazos largos de los cromosomas 1 y 17. (5, cit.10).

De los 28 casos, encontramos dos que por su evolución merecen una descripción más detallada.

El primero, una niña de 6 meses de edad con un neuroblastoma retroperitoneal, estroma escaso diferenciado, estado IVs, a quien se le dió tratamiento con quimioterapia entrando en remisión completa y dos años después presentó un nódulo en la región plantar, el cual fue diagnosticado histológicamente como un ganglioneuroma. Esta forma de regresión tumoral, con maduración a ganglioneuroma a través de citodiferenciación, es la mejor documentada (4, 11), presentándose en un 1 a 2% de los casos, principalmente en niños menores de un año, representando probablemente la secuencia natural esperada en esta lesión. Otras formas de regresión tumoral consisten en desaparición del tumor por citólisis o hemorragia y necrosis que llevan a fibrocalcificación.

El segundo, un niño de 10 meses con un neuroblastoma estroma abundante mixto, retroperitoneal, estado III,

tratado con resección quirúrgica, permaneció en remisión completa por más de tres años hasta que presentó recurrencia del tumor a nivel de SNC, falleciendo cinco años después del diagnóstico inicial. Este tipo de evolución ya ha sido descrito (22, 26) como un evento muy raro al que han llamado "recurrencia tardía de neuroblastoma", presentándose más frecuentemente en la adolescencia.

En conclusión, consideramos la clasificación histológica de Shimada, como la herramienta más útil, económica y fácilmente reproducible, para que el patólogo, en su práctica diaria, pueda subclasificar los neuroblastomas con fines pronósticos y esperamos que redunde en nuevas estrategias terapéuticas para mejorar los niveles de supervivencia de los pacientes con esta neoplasia.

RESUMEN

Se revisaron y reclasificaron histológicamente 28 casos confirmados de neuroblastoma en niños, diagnosticados en un periodo de 18 años (1970 -1988) en el INC, según el sistema de clasificación pronóstica de Shimada (24).

Se comparó la relación pronóstica de éste método y de los parámetros clínicos clásicos (edad, localización, estado clínico).

Este estudio concluye que la clasificación histológica del neuroblastoma con este método es válida, económica y fácilmente reproducible, pero que los parámetros clínicos siguen siendo, hasta la fecha, los indicadores pronósticos más importantes en esta neoplasia.

TABLA # 1. CLASIFICACION PRONOSTICA (SHIMADA)

ESTROMA/EDAD	FAVORABLE	DESFAVORABLE
ABUNDANTE/-	BIEN DIFERENCIADO MIXTO	NODULAR
ESCASO/<1.5 AÑOS	MKI < 200/5000	MKI > 200/5000
ESCASO/>1.5-<5 AÑOS	MKI < 100/5000 Y DIFERENCIADO	MKI > 100/5000 o INDIFERENCIADO
ESCASO/ > 5 AÑOS	NINGUNO	TODOS

TABLA # 2. CLASIFICACION POR ESTADOS CLINICOS (EVANS)

ESTADO	CARACTERISTICAS
I	Tumor limitado al órgano ó estructura de origen.
II	Tumores que se extienden en continuidad más allá del órgano ó estructura de origen pero no cruzan la línea media, puede haber compromiso de ganglios linfáticos regionales del mismo lado.
III	Tumores que se extienden en continuidad más allá de la línea media. Puede haber compromiso bilateral de ganglios linfáticos regionales.
IV	Enfermedad a distancia que involucra al esqueleto, órganos, tejidos blandos ó grupos alejados de ganglios linfáticos, etc.
IVs	Pacientes que corresponden por otra parte a estados I ó II, pero presentan enfermedad alejada limitada a uno ó más de los siguientes sitios: hígado, piel ó medula ósea, sin evidencia radiológica de metástasis óseas en una evaluación esquelética completa.

TABLA # 3. SOBREVIDA POR EDAD

EDAD	# CASOS	<u>TIEMPO DE</u> SEGUIM.			
		6 meses	<u>12 meses</u>	18 meses	36 meses
<18meses	12	83.33	<u>66.67</u>	58.33	58.33
>18M, <5A	11	78.75	<u>56.25</u>	22.50	22.50
>5 Años	5	20.00	<u>20.00</u>	0.00	-----
p 1/2		NS	<u>NS</u>	p<0.05	p<0.05
p 2/3		p<0.05	<u>NS</u>	NS	-----
p 1/3		p<0.01	<u>p<0.05</u>	p<0.05	-----

TABLA # 4. DISTRIBUCION POR LOCALIZACION DEL TUMOR

LOCALIZACION	# CASOS	PORCENTAJE
RETROPERITONEAL	21	75.00%
SUPRARRENAL	4	14.29%
MEDIASTINO	3	10.71%
TOTAL	28	100.00%

TABLA # 5. DISTRIBUCION POR ESTADO CLINICO

ESTADO CLINICO	# CASOS	PORCENTAJE
I	1	3.57%
II	4	14.29%
III	3	10.71%
IV	17	60.72%
IVs	3	10.71%
TOTAL	28	100.0

TABLA # 6. SOBREVIDA POR ESTADO CLINICO

ESTADO	# CASOS	<u>TIEMPO DE</u> SEGUIM.			
		6 meses	<u>12 meses</u>	18 meses	36 meses
I, II, IVS	8	100.00	<u>100.00</u>	100.00	100.00
III ó IV	20	51.32	<u>28.51</u>	5.70	5.70
P		<0.01	<u><0.0005</u>	<0.00001	<0.00001

TABLA # 7. DISTRIBUCION POR TRATAMIENTO

TRATAMIENTO	# CASOS	# CASOS POR EST.CLINICO
NINGUNO	6	1 (I) - 5 (IV)
CIRUGIA SOLA	3	2 (II) - 1 (III)
CIR + QUIM	4	1 (II) -1 (III)-1 (IV) 1 (IVs)
CIR + RAD	1	1 (II)
CIR + RAD +QUIM	3	3 (IV)
QUIM SOLA	5	2 (IVs) - 3 (IV)
RAD SOLA	1	1 (IV)
QUIM RAD	5	1 (III) - 4 (IV)

TABLA # 8. DISTRIBUCION POR TIPO DE ESTROMA

ESTROMA	# CASOS	PORCENTAJE
ABUNDANTE-BIEN DIFERENCIADO	1	3.57%
ABUNDANTE-MIXTO	1	3.57%
ABUNDANTE-NODULAR	1	3.57%
POBRE-DIFERENCIADO	22	78.57%
POBRE-INDIFERENCIADO	3	10.71%
TOTAL	28	100.00%

TABLA # 9. SOBREVIDA POR ESTROMA ESCASO DIERENCIADO + EDAD

EDAD	# CASOS	<u>TIEMPO DE</u> SEGUIM.			
		6 meses	<u>12 meses</u>	18 meses	36 meses
<18meses	10	80.00	<u>60.00</u>	60.00	60.00
>18M, <5A	9	85.71	<u>57.14</u>	14.29	14.29
>5 Años	3	0.00	<u>-----</u>	-----	-----
p 1/2		NS	<u>NS</u>	p<0.05	p<0.05
p 2/3		p<0.010	<u>-----</u>	-----	-----
p 1/3		p<0.005	<u>-----</u>	-----	-----

TABLA # 10. SOBREVIDA POR MKI.

MKI	# CASOS	<u>TIEMPO DE</u> SEGUIM.			
		6 meses	<u>12 meses</u>	18 meses	36 meses
< 100	8	50.00	<u>50.00</u>	50.00	50.00
100-200	9	71.43	<u>42.86</u>	14.29	14.29
> 200	6	62.50	<u>37.50</u>	25.00	25.00
p 1/2		NS	<u>NS</u>	NS	NS
p 2/3		NS	<u>NS</u>	NS	NS
p 1/3		NS	<u>NS</u>	NS	NS

TABLA # 11. SOBREVIDA POR ESTROMA POBRE DIFERENCIADO + MKI

ESTR. POBRE DIFERENC.	# CASOS	<u>TIEMPO DE</u> SEGUIM.			
		6 meses	<u>12 meses</u>	18 meses	36 meses
MKI<100	7	57.14	<u>57.14</u>	57.14	57.14
MKI 100-200	9	71.43	<u>42.86</u>	14.29	14.29
MKI>200	6	83.33	<u>50.00</u>	33.33	33.33
p 1/2		NS	<u>NS</u>	p<0.05	p<0.05
p 2/3		NS	<u>NS</u>	NS	NS
p 1/3		NS	<u>NS</u>	NS	NS

TABLA # 12. SOBREVIDA POR PRONOSTICO (SHIMADA)

PRONOS- TICO.	# CASOS	<u>TIEMPO DE</u> SEGUIM.			
		6 meses	<u>12 meses</u>	18 meses	36 meses
FAVORAB.	10	80.00	<u>80.00</u>	70.00	70.00
DESFAV.	18	57.75	<u>32.09</u>	12.83	12.83
p		NS	<u><0.01</u>	<0.005	<0.005

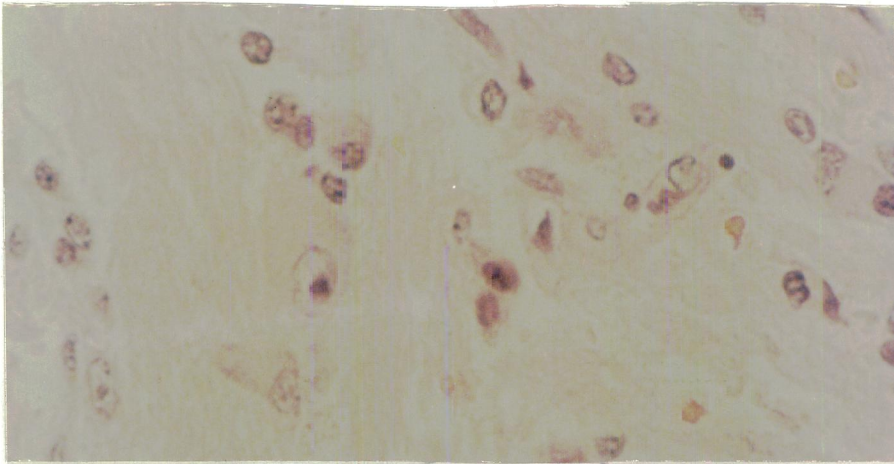


FIGURA 1. NEUROBLASTOMA CON ABUNDANTE ESTROMA

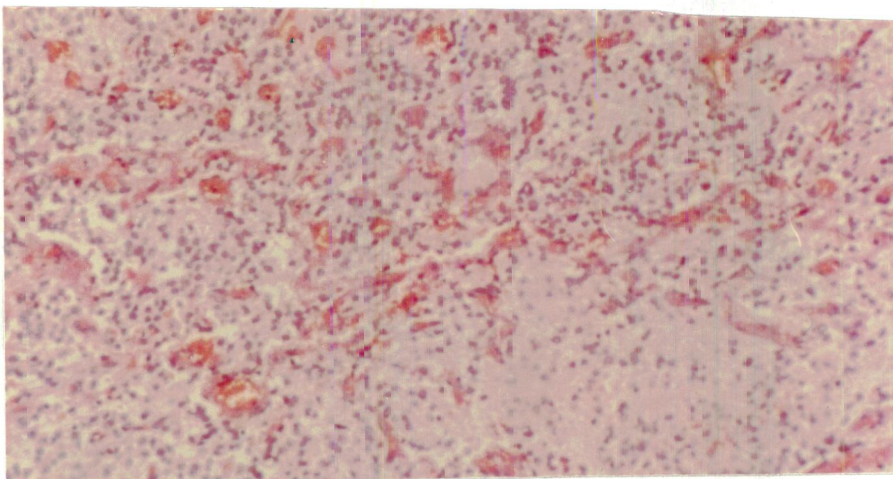


FIGURA 2. NEUROBLASTOMA CON ESCASO ESTROMA

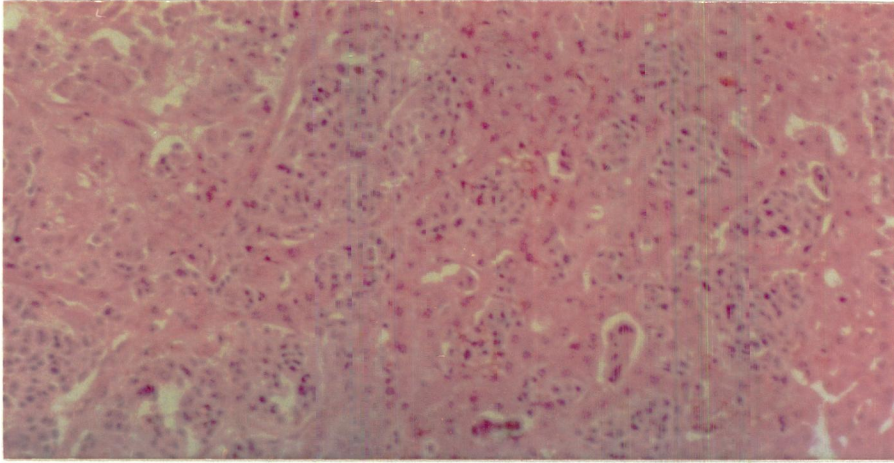


FIGURA 3. NEUROBLASTOMA CON ABUNDANTE ESTROMA-BIEN DIFERENCIADO

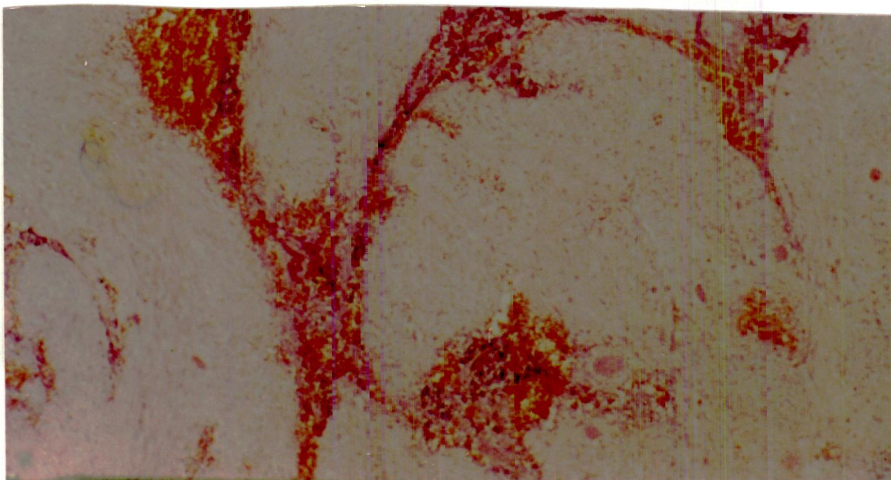


FIGURA 4. NEUROBLASTOMA CON ABUNDANTE ESTROMA MIXTO

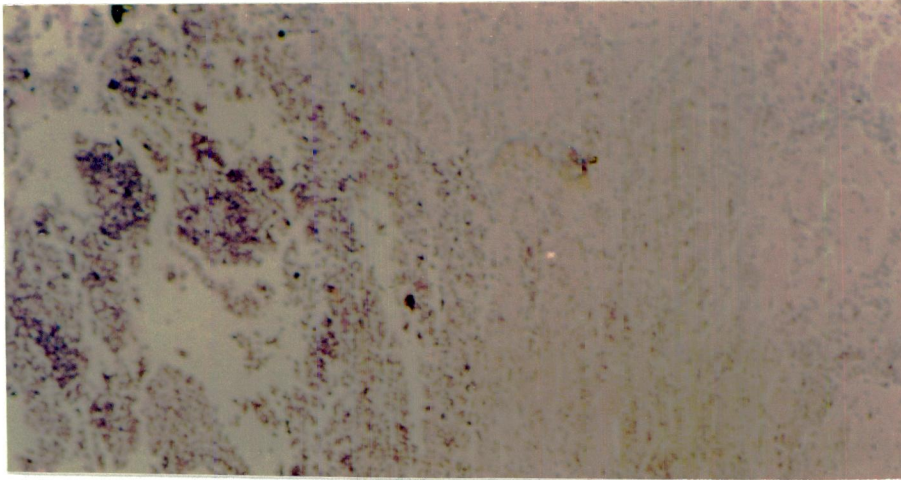


FIGURA 5. NEUROBLASTOMA CON ABUNDANTE ESTROMA NODULAR

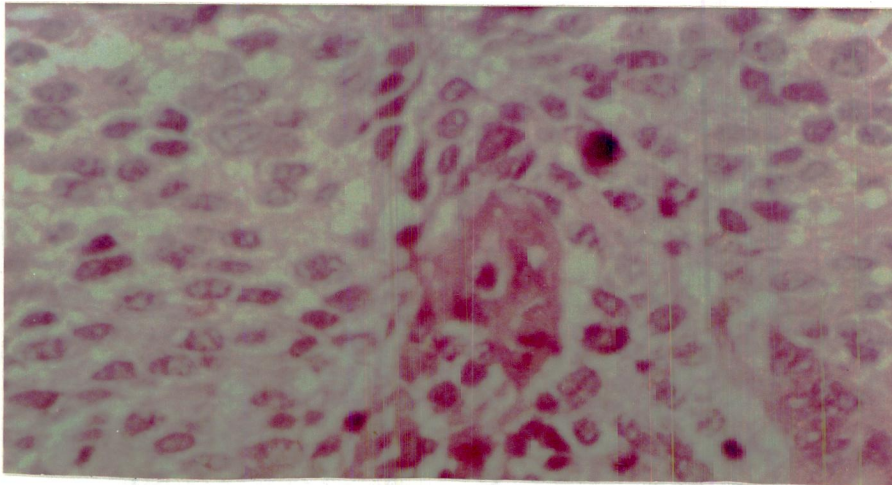


FIGURA 6. NEUROBLASTOMA CON ESCASO ESTROMA DIFERENCIADO

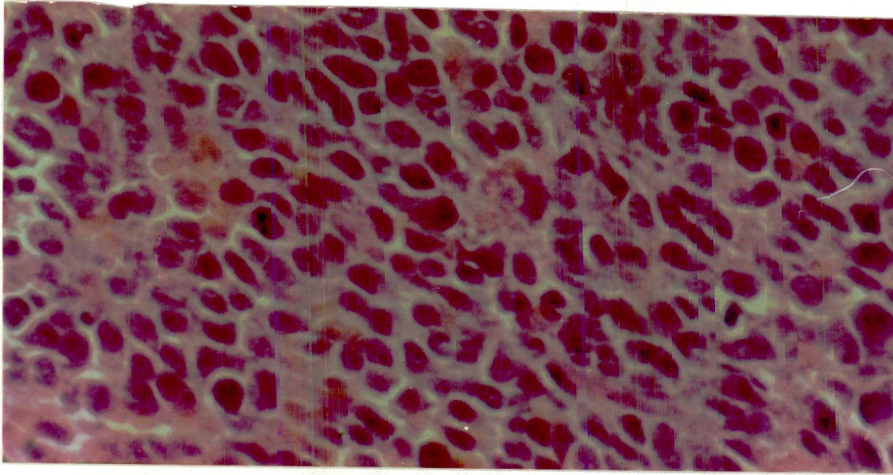


FIGURA 7. NEUROBLASTOMA CON ESCASO ESTROMA INDIFERENCIADO

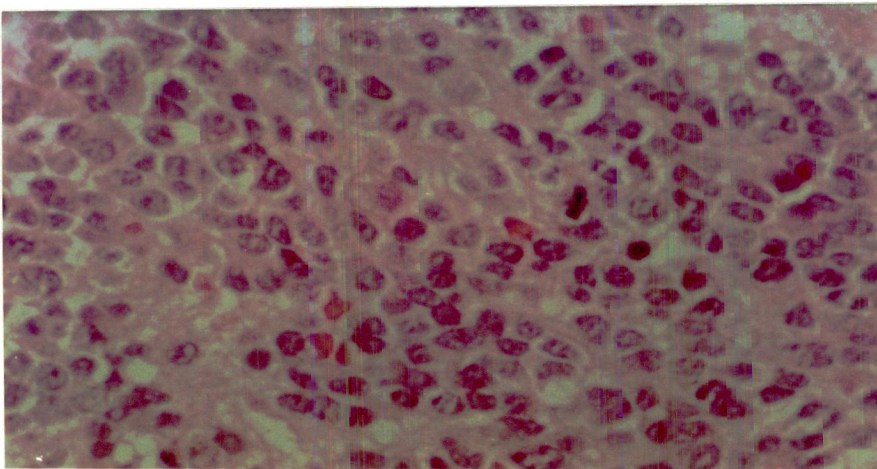


FIGURA 8. MKI BAJO. MENOS DE 100/5000 CELULAS

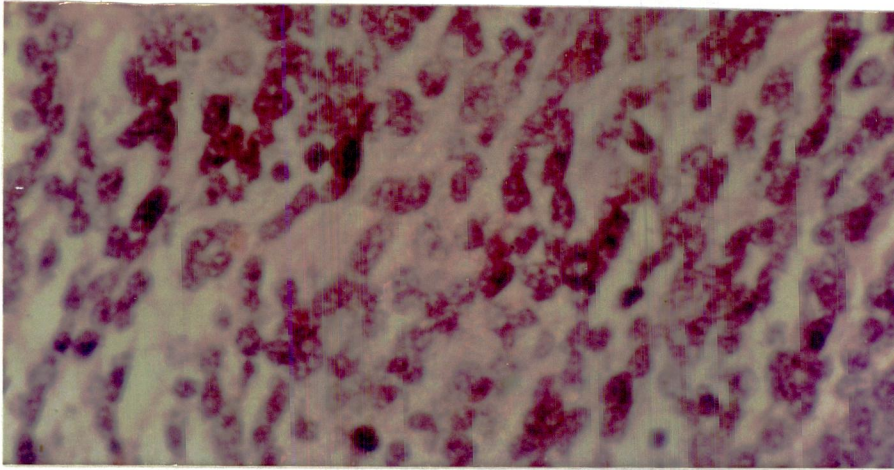


FIGURA 9. MKI INTERMEDIO. DE 100 - 200/5000 CELULAS

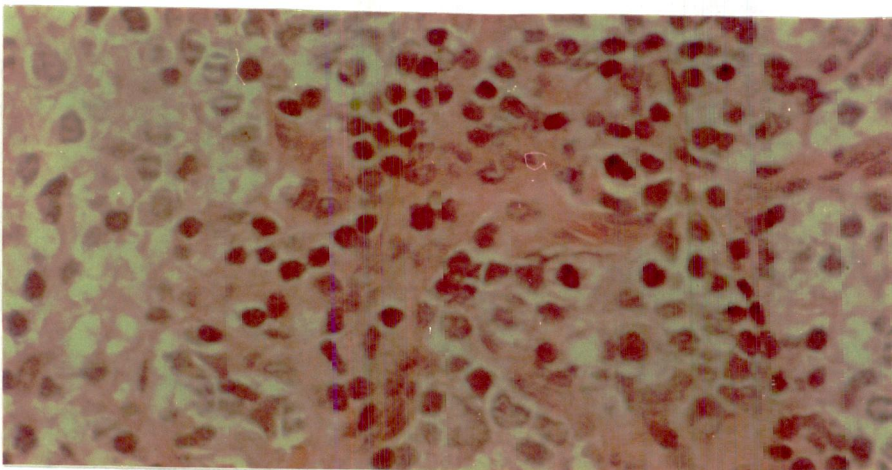


FIGURA 10. MKI ALTO. MAS DE 200/5000 CELULAS

SOBREVIDA GLOBAL

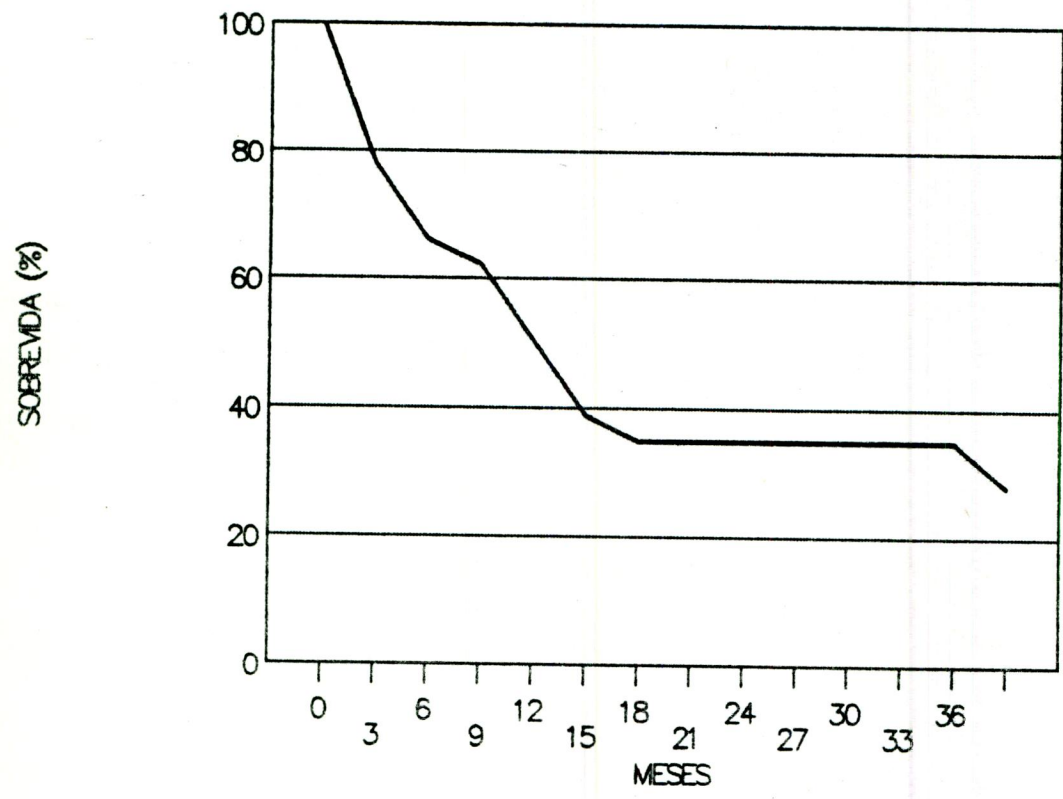


FIGURA 11

SOBREVIDA POR SEXO

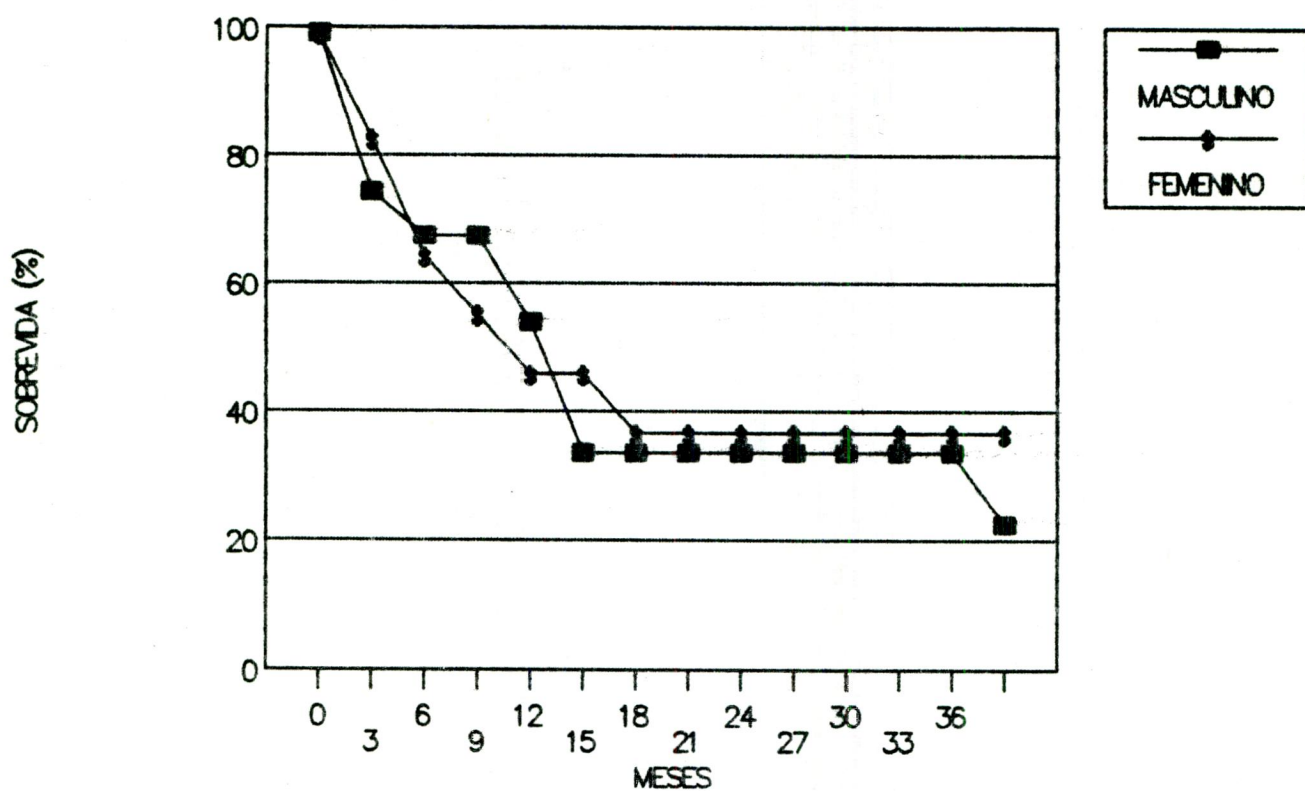


FIGURA 12

SOBREVIDA POR EDAD

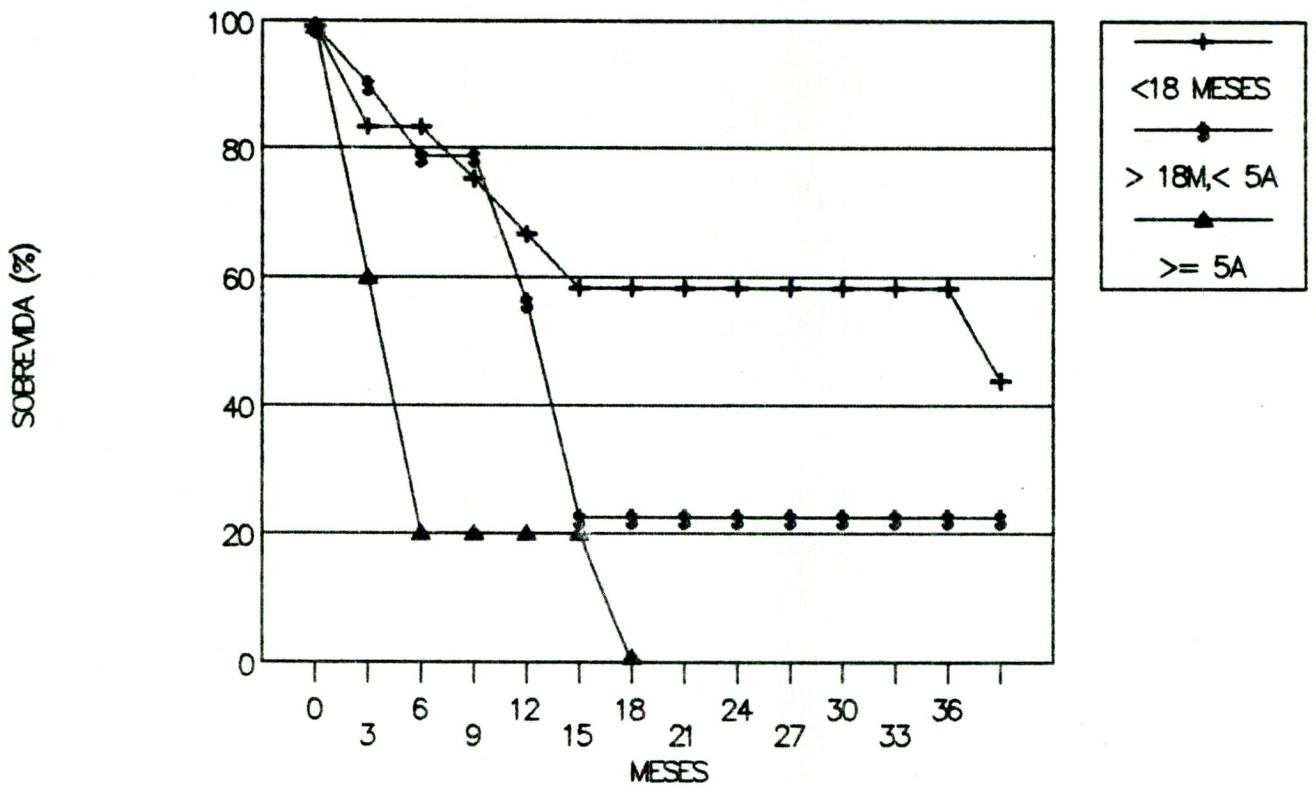


FIGURA 13

SOBREVIDA POR ESTADO

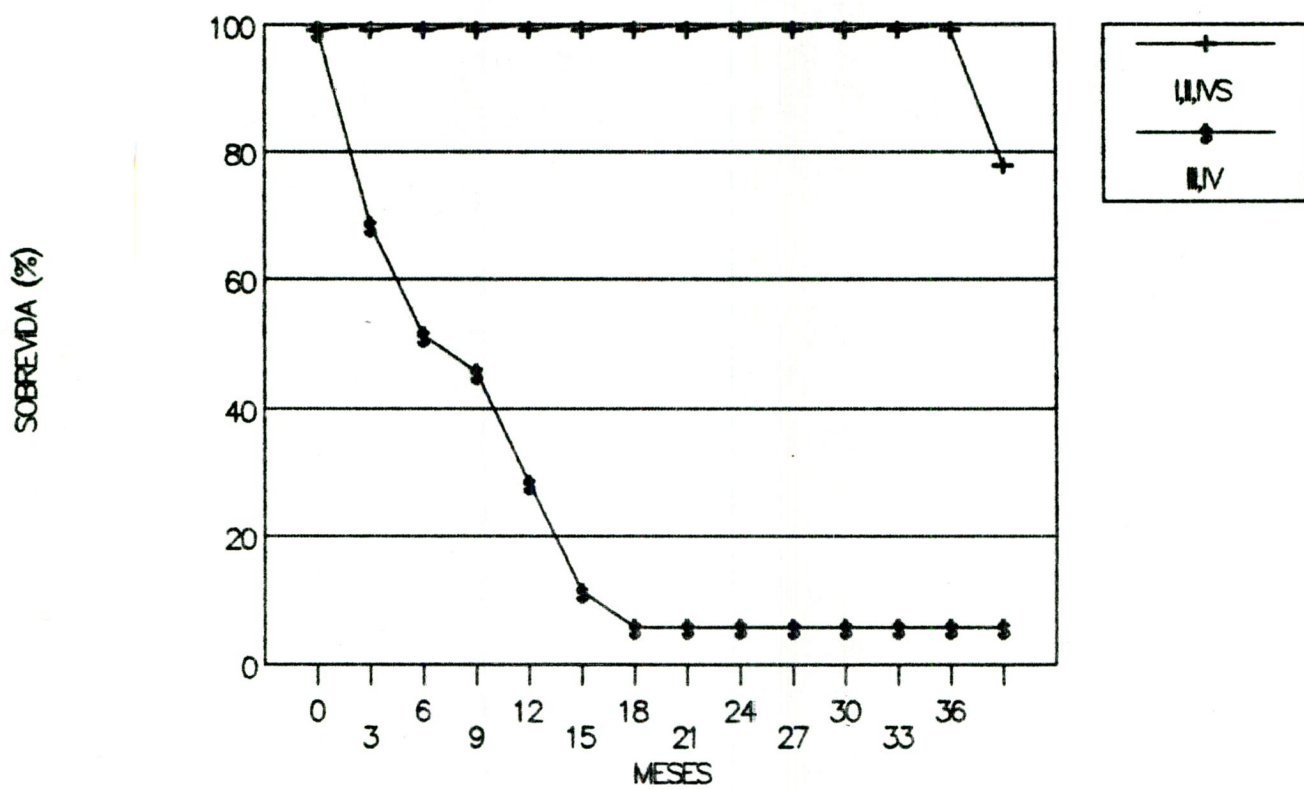


FIGURA 14

SOBREVIDA POR CATEC. VMA

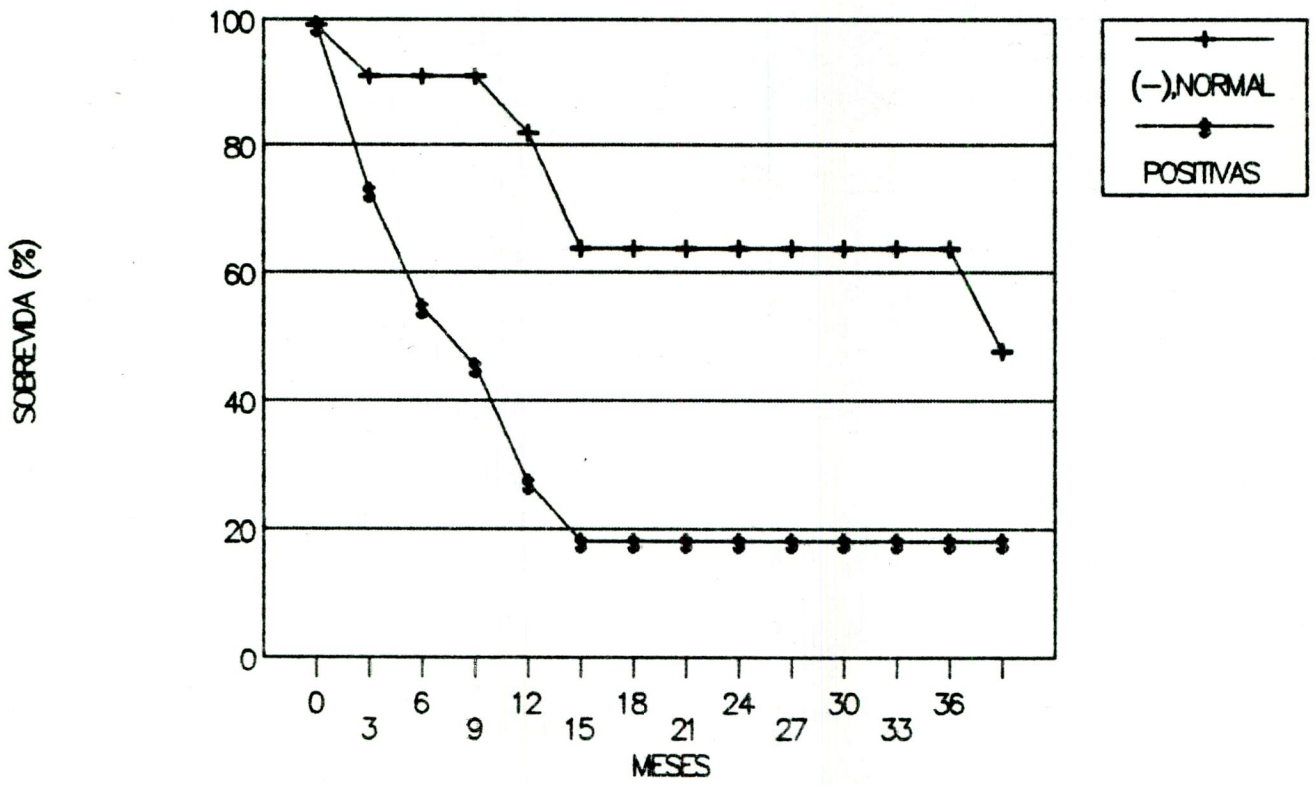


FIGURA 15

SOBREVIDA POR PRONOSTICO

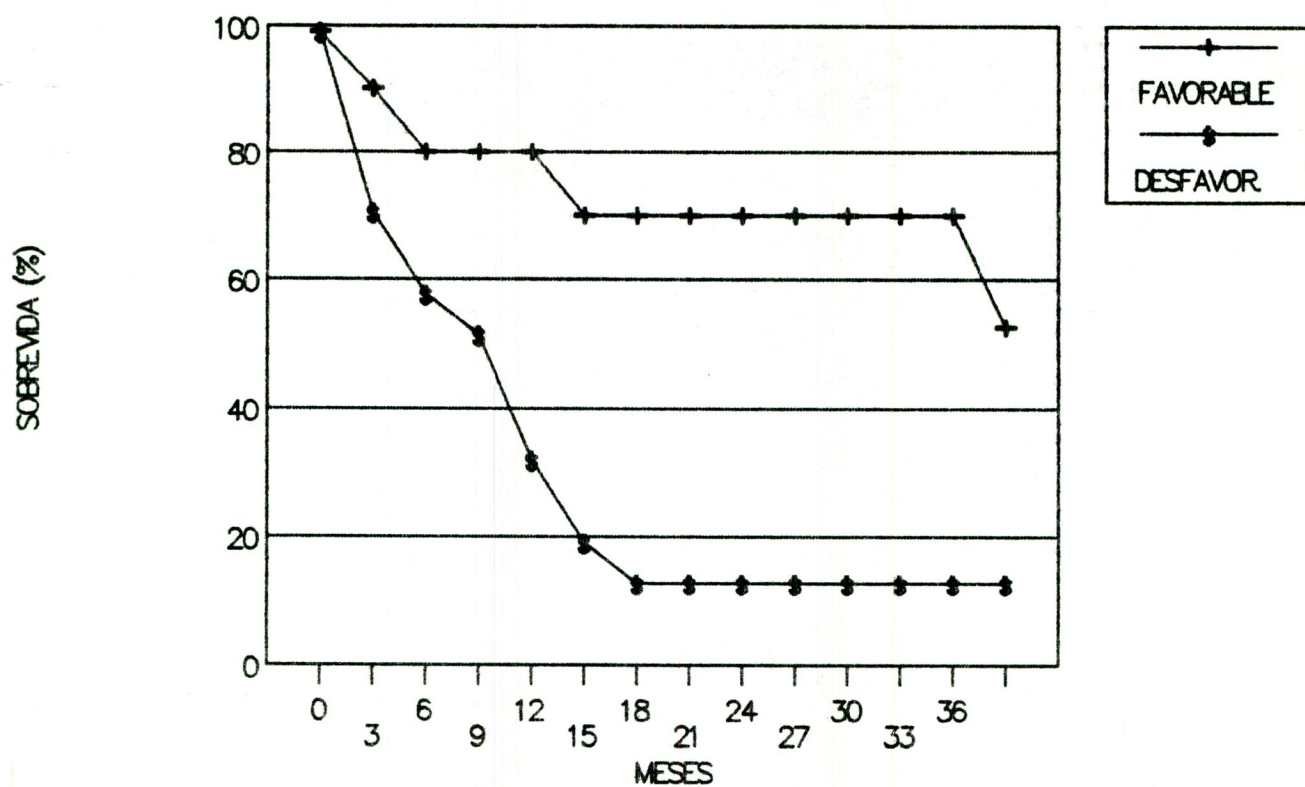


FIGURA 16

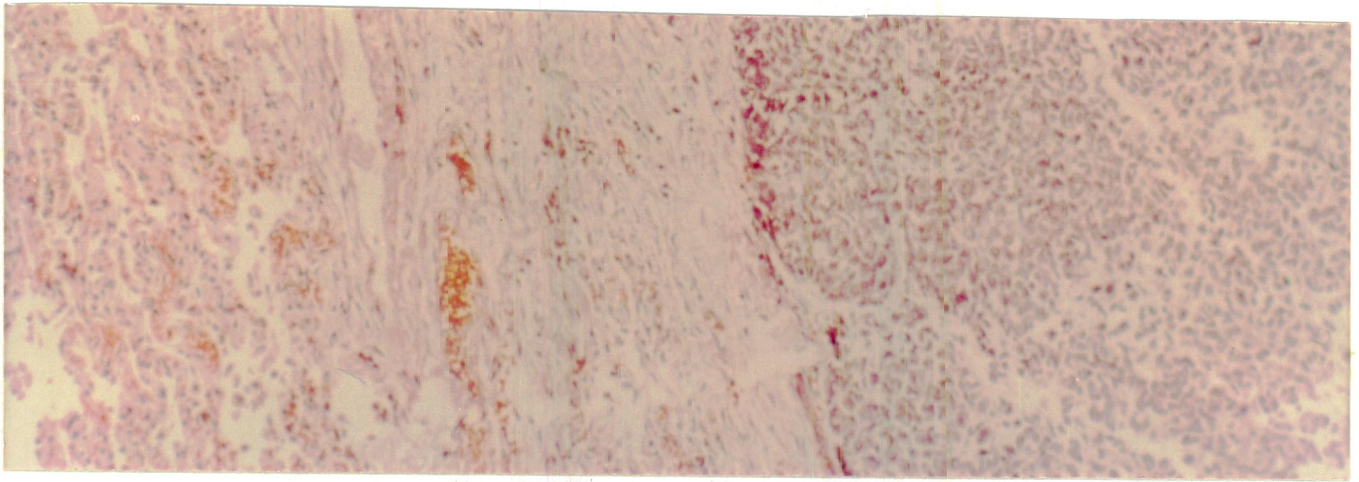


FIGURA 17. NEUROBLASTOMA METASTASICO A PULMON

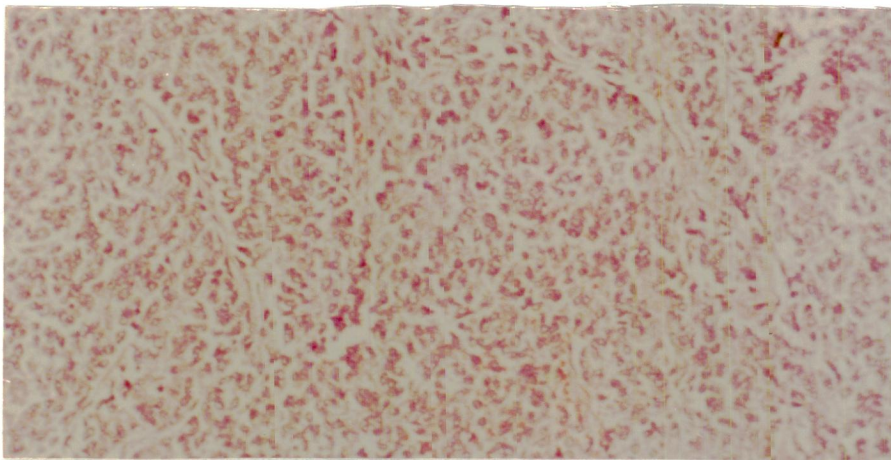


FIGURA 18. NEUROBLASTOMA. TUMOR PRIMARIO QUE METASTATIZO A PULMON

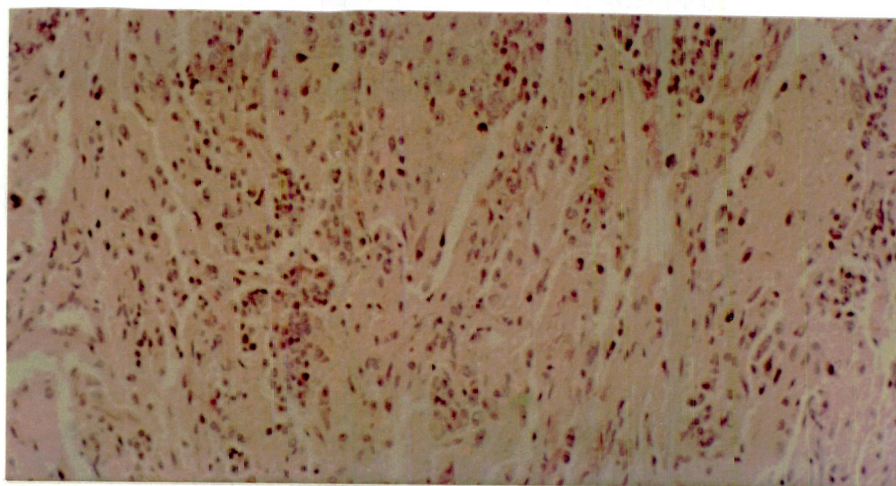


FIGURA 19. NEUROBLASTOMA CON ABUNDANTE ESTROMA, BIEN DIFERENCIADO
CON INFILTRADO LINFOCITICO.

BIBLIOGRAFIA

1. Adam A, Hochholzer L. Ganglioneuroblastoma of the posterior mediastinum: a clinicopathologic review of 90 cases. *Cancer* 1981;47:373-81.
2. Bahn AK. *Basic Medical Statistics*. Grune and Stratton. New York.1972.
3. Beckwith JB, Martin RF. Observations on the histopathology of neuroblastomas. *J Pediatr Surg* 1968; 3:106-10.
4. Bolande RF. Developmental Pathology. *Am J Pathol* 1979;94(3):662-666.
5. Brodeur GM, Sekhon GS, Goldstein MN. Chromosomal aberrations in human neuroblastomas. *Cancer* 1977;40: 2256-63.
6. Brook FB, Raafat ChBF, Eldeeb BB, Mann JR. Histologic and immunohistochemical investigation of neuroblastomas and correlation with prognosis. *Hum Pathol* 1988;19:879-888.

7. Chatten J, Shimada H, Sather HN, Wong KY, Siegel SE, Hammond GD. Prognostic value of histopathology in advanced neuroblastoma: A report from the childrens cancer study group. Hum Pathol 1988;19:1187-1198.
8. Codman AJ, Fryer CJH, Elwood JM, Sonley MJ. Neuroblastoma; influence of age at diagnosis, stage, tumor site, and sex on prognosis. Cancer 1980;46:1896-901.
9. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA. Cancer, principles and practice of oncology. JB Lippincott Company. Philadelphia.1982.219-223.
10. Dehner LP, Classic neuroblastoma. Histopathologic grading as a prognostic indicator. The Shimada system and its progenitors. Am J Pediatr Hematol Oncol 1988;10(2):143-154
11. Enzinger FM, Weiss Sh. Tumores de tejidos blandos. Primera reimpression. Editorial medica panamericana, Buenos Aires. 1.988.
12. Evans AE, D'Angio GJ, Randolph J. A proposed staging for children with neuroblastoma. Cancer 1971;27:374-378.
13. Evans AE, D'Angio GJ, Propert K, et al. Prognostic factors in neuroblastoma. Cancer 1987;59:1853-9.

14. Finkelstein JZ. Neuroblastoma: It is time for a new approach. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1988;10(2):155-160.
15. Gitlow SE, Bertani-Dziedzic L, Strauss L, et al. Biochemical and histologic determinants in the prognosis of neuroblastoma. *Cancer* 1973;32:898-905.
16. Helson L. Comments on "Neuroblastoma: It is time for a new approach", by Jerry Z. Finkestein, M.D. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1988;10(2):161-162.
17. Hughes M, Marsden Hb, Palmer MK. Histologic patterns of neuroblastoma related to prognosis and clinical staging. *Cancer* 1974;34:1706-11.
18. Kohl NE, Gee CE, Alt FW. Activated expression of the N-myc gene in human neuroblastomas and related tumors. *Science* 1984;226:1335-7.
19. Makinen J. Microscopic patterns as a guide to prognosis of neuroblastoma in childhood. *Cancer* 1972;29:1637-45.
20. Osborn M, Dirk T, Kaser H, et al. Immunohistochemical localization of neurofilaments and neuron-specific enolase in 29 cases of neuroblastoma. *Am J Pathol* 1986;122:433-42.

21. Ferentes E, Rubinstein LJ. Recent applications of immunoperoxidase histochemistry in human neuro-oncology. An update. Arch Pathol Lab Med 1987;111:796-812.
22. Richards MJS, Joo P, Gilbert EF. The rare problem of late recurrence in neuroblastoma. Cancer 1976;38:1847-1852.
23. Seeger RC, Brodeur GM, Sather H, et al. Association of multiple copies of the N-myc oncogene with rapid progression of neuroblastoma. N Engl J Med 1985;313:1111-1116.
24. Shimada H, Chatten J, Newton WA Jr, et al. Histopathologic prognostic factors in neuroblastic tumors: definition of subtypes of ganglioneuroblastoma and an age-linked classification of neuroblastoma. J Natl Cancer Inst 1984;73:404-13.
25. Shimada H, Aoyama C, Chiva T, Newton WA Jr. Prognostic subgroups for undifferentiated neuroblastoma; immunohistochemical study with anti-S-100 protein antibody. Hum Pathol 1985;16:471-6.
26. Sutherland DM, Krementz ET, Harkin JC, Culotta V. Recurrence of neuroblastoma following prolonged remission. Arch Surg 1981;116:474-475.

27. Thomas PRM, Lee JY, Fineberg BB, et al. An analysis of neuroblastoma at a single institution. *Cancer* 1984; 53: 2079-82.
28. Tonini GP, Verdone G, De Bernardi B, et al. N-myc oncogene amplification in a patient with IVs neuroblastoma. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1987;9:8-10.
29. Triche TJ, Askin FB, Kissane JM. Neuroblastoma, Ewing's sarcoma, and the differential diagnosis of small, round, blue cell tumors. In Finegold M. ed. *Pathology of neoplasia in children and adolescents*. vol 18. Philadelphia:WB Saunders, 1986:145-195.
30. Tsokos M, Linnoila RI, Chandra RS, Triche TJ. Neuron-specific enolase in the diagnosis of neuroblastoma and other small, round cell tumors in children. *Hum Pathol* 1984;15:575-84.

Instituto Nacional de Cancerología



INC002474