



Universidad Euskal Herriko  
del País Vasco Unibertsitatea

Departamento de Genética, Antropología Física y Fisiología Animal  
Genetika, Antropologia Fisikoa eta Animalien Fisiologia Saila

**ESTUDIO MOLECULAR EN MEDULOBLASTOMAS PEDIÁTRICOS:  
DETERMINACIÓN Y VALIDACIÓN DE MARCADORES GENÉTICOS PARA LA  
ESTRATIFICACIÓN DEL TRATAMIENTO ADAPTADO A FACTORES DE  
RIESGO CLÍNICO Y BIOLÓGICO**

**TESIS DOCTORAL**

**Olaia Aurtenetxe Saez**

**Leioa, 2017**

A Xabi, Maialen y Aitor por ser lo mas importante de mi vida

A Naroa por ser más que una hermana



## AGRADECIMIENTOS

Hay tanto que agradecer y tanta gente en mente que me haría falta otro tomo para esta tesis. Lo que sí tengo claro es por dónde empezar...

Mi primer pensamiento pasa por la Dra. Navajas, a la que agradezco infinitamente la oportunidad que me dio de introducirme en la oncología pediátrica. Por aquel entonces me pareció un área interesante, aunque poco atractiva por la dureza que supone tratar una enfermedad como es el cáncer en los niños, pero esa sensación ha cambiado por completo en este tiempo gracias a lo que ella me ha enseñado y me ha transmitido. Gracias también por llevarme siempre a congresos, reuniones, jornadas, charlas..., y sobre todo, por facilitarme ser un miembro más de los grupos nacional e internacional de tumores cerebrales infantiles. Creo que ya quedan pocos profesionales como ella, que se desviven por sus pacientes y además, lo dan todo por su gente, sin perder un ápice de rigor y seriedad en el trabajo. El jefe que a todo el mundo le gustaría tener. Gente comprometida con la investigación, incansable en el trabajo... y fuera de él. Pero principalmente le estoy agradecida por ser como es, por su infinita generosidad y ayuda, por su cercanía y constante disposición. Y como no, por animarme siempre a terminar con este trabajo y darme el último empujón. Ha sido un privilegio tenerla cerca. GRACIAS.

Quisiera agradecer también a la Dra. Laura Zaldumbide, por su dedicación al trabajo y el gran esfuerzo realizado en esta tesis. Una gran profesional y buenísima profesora de anatomía patológica. Gracias por estar siempre disponible para las muestras de oncología pediátrica y por ayudarme en todo lo que he necesitado.

A mis grandes amigas del labo, Bego y Esti, mi gran apoyo en todo y para todo, desde el principio al fin. Gracias por existir brujas, estos años no hubieran sido ni la mitad de bueno sin vosotras. Sois lo mejor que me llevo. Os quiero un montón. Y sin olvidarme de Tamara, otra brujilla, que a pesar de haberse ido un poco lejos la sentimos cerca todos los días. Te echamos de menos.

También quería agradecer a las enfermeras, auxiliares y médicos de la unidad de oncología pediátrica del hospital por ayudarme a recoger muestras y datos de los pacientes, y por los buenos ratos que hemos pasado. Siempre me habéis tratado genial y me llevo todo vuestro cariño; las Cármenes, Bego, M<sup>a</sup> Jose, Lucia, Aizpea, Rosa y

Ricardo. A Miguel, porque en su día acepto embarcarse en los tumores cerebrales, sobre todo con los medulos, sin saber lo que se le venía encima, pero ya has cogido las riendas y estoy segura que seguirás haciéndolo bien, eres muy capaz. A Marta Menchaca miles de gracias por tu cariño, preocupación y apoyo, que han sido constantes. Eres una gran profesional y mejor persona. Y no quería dejar pasar esta ocasión sin tener un recuerdo muy especial para Alex, con el que compartí unos años mano a mano en tumores cerebrales y al que admiro por su capacidad y talento, y del que he podido aprovechar mucho trabajo para mi tesis. Y otro recuerdo muy cariñoso para Marina, a la que tengo que agradecer tantas cosas... que necesito otro tomo! Simplemente maravillosa. Se te hecha mucho de menos en el pasillo.

A mis loquillas del labo Susana, Lore e Idoia... millones de gracias por alegrarme los días, los cafés, los desayunos, las comidas y especialmente las tardes con la hora loca. Gracias por las conversaciones que hemos tenido, algunas muy profundas, otras sin sustancia, otras muy serias, muchísimas de mearnos de la risa... Siempre dispuestas a escuchar, ayudar y a animar cuando sea necesario. Que vamos a hacer las unas sin las otras? Uffff va ser duro encontrar repuestos. Bueno muchas veces se nos ha unido Iker, que es de la quinta, así que podemos echar mano de él. Eskerrik asko mutil, oso jatorra zara eta beti laguntzeko prest. Eutsi lagun!

Gracias también a Unai, al que conozco desde los inicios, por ayudarme tanto y estar pendiente cuando le necesito. Durante un buen tiempo hemos compartido labo y ahora además compartimos jefe...

Me gustaría agradecer a Borja y Julene la paciencia que han tenido conmigo y con mi base de datos, gracias por haberme hecho más fácil la estadística y por ayudarme tanto.

A Rafa Pulido por darme la oportunidad de seguir vinculada a la oncología pediátrica, pero desde un punto de vista más básico. Espero que podamos aprovechar el trabajo realizado con las PTPs y el neuroblastoma.

Y así podría seguir sin fin, acordándome de gente que ya no está por aquí, Aitzi, las inmunogenetics, Buli, Galder, Xabi, Rafa Morales, Laura, Eva, Esti T., Andrea... y otro montonazo de compis que dejo levantando este instituto, Unai, Nuria, las PTP Power, Paco, Teba, Loli, Miren, Arantza, Javi, Rosa, Inés, Gus, Lorea, los computacionales, los de la 4ª (Rocío, Cecilia, Iván, Rubén), Virginia, Susana, Pijoan, Amaia...

Por eso, todos mis compañeros y amigos, estén donde estén, y sin excepción, se merecen muchas y buenas palabras, ya que con ellos he compartido despacho, laboratorio e incontables horas de trabajo y buenos ratos, lo cual no tiene precio. Por todo el tiempo que me han dado, por las conversaciones científicas, laborales y personales de las que tanto provecho he sacado, por el respaldo y la amistad. Gracias por los buenos y malos momentos, por aguantarme y por escucharme. ¿Quién puede pedir más? Nos hemos dado ánimos por el camino, y eso siempre ayuda. Seguir luchando por la investigación y por los investigadores. A todos ellos, gracias.

Quiero aprovechar un huequito de estas páginas para expresar mi gratitud y cariño a todos los niños enfermos de cáncer y sus familias. Porque su lucha para seguir adelante, su fortaleza y valentía a pesar de la situación tan dura que viven, me ha enseñado a parar y pensar cuando veo el vaso medio lleno y he aprendido a relativizar mis “pequeños” problemas. Gracias de corazón por apoyar la investigación y aportar todo lo que está en vuestra mano. Sois un ejemplo a seguir.

Por último, pero no por ello menos importante, agradecer a mi marido y a mis hijos su amor, que me motiva y me da fuerza diariamente. Gracias por la paciencia que habéis tenido estos últimos meses, aguantando mis ausencias y mi cansancio. Os quiero infinito y no sería nadie sin vosotros. Xabi has hecho un buen trabajo cuidando de la familia, te quiero.



Este trabajo ha sido posible gracias a las ayudas concedidas por el Departamento de Salud del Gobierno Vasco, Instituto de Salud Carlos III, EITB Maratoia, SAIOTEK y Asociación Pablo Ugarte.



## LISTA DE ABREVIATURAS

ACCIS	<i>Automated Childhood Cancer Information System (Europe)</i>
AT/RT	Tumor Teratoide Rabdoide Atípico
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AIEOP	<i>L'associazione Italiana Ematologia ed Oncologia Pediatrica</i>
APC	<i>Adenomatous polyposis coli</i>
ARN	Ácido ribonucleico
CCSG	<i>Children's Cancer Study Group</i>
CDK6	<i>Cyclin dependent kinase 6</i>
COG	<i>Children's Oncology Group</i>
ColS	Colaboradores
CSI	Radiación craneoespinal estándar
CTNNB1	<i>Catenin Beta 1</i>
dNTP	Desoxirribonucleótidos trifosfato
DO	Densidad óptica
EC	Ensayos clínicos
ERBB2	<i>v-erb-b2 erythroblastic leukaemia viral oncogene homologue2</i> , neuroma/glioblastoma
FFPE	<i>Formalin-fixed paraffin embedded</i>
FISH	Hibridación fluorescente <i>in situ</i>
GAB1	<i>GRB2-associated binding protein 1</i>
GLI2	<i>GLI family zinc finger 2</i>
GPOH	<i>Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie</i>
Gy	<i>Gray</i>
h	Hora
HFRT	Radioterapia hiperfraccionada
ICCC-3	<i>International Classification of Childhood Cancer-3</i>
IMRT	Radioterapia de intensidad modulada
LCA	Célula grande y anaplásico
LCR	Líquido cefalorraquídeo
MB	Meduloblastoma

MBEN	Meduloblastoma con Nodularidad Extensa
MLH1	<i>MutL homologue 1, colon cancer, nonpolyposis type 2 (E. Coli)</i>
MYCC	<i>v-myc myelocytomatosis viral oncogene homologue (avian)</i>
MYCN	<i>v-myc myelocytomatosis viral related oncogene, neuroblastoma derived (avian)</i>
NeuN	<i>Neuronal Nuclei</i>
NGS	<i>Next-Generation sequencing</i>
OMS	Organización Mundial de la Salud
OTX2	<i>Orthodenticle homeobox 2</i>
PBS	Tampón fosfato salino
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PMS2	<i>Mismatch repair endonuclease</i>
PNET	Tumor neuroectodérmico primitivo
PNET3	<i>Primitive neuroectodermal tumour 3 trial</i>
PNET4	<i>Primitive neuroectodermal tumour 4 trial</i>
PNET5	<i>Primitive neuroectodermal tumour 5 trial</i>
PTCH	<i>Patched 1</i>
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
QC	<i>Quality Control</i>
QT	Quimioterapia
RMI	Resonancia Magnética de Imagen
RETI	Registro Español de Tumores Infantiles
RT	Radioterapia
SEER	<i>Surveillance, Epidemiology and End Results (US)</i>
SEG	Segundo
SEHOP	Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátrica
SFOP	<i>Société Francaise D'Oncologie Pédiatrique</i>
SFRP1	<i>secreted frizzled-related protein 1</i>
SHH	<i>Sonic Hedgehog</i>
SIOP	Sociedad Internacional de Oncología Pediátrica
SMO	<i>Smoothened</i>
SNC	Sistema nervioso central

SG	Supervivencia global
SLE	Supervivencia libre de enfermedad
<i>SUFU</i>	<i>Suppressor of fused homologue</i> (Drosophila)
<i>TP53</i>	<i>Tumor protein p53</i>
TrkC	<i>Tropomyosin-receptor kinase C</i>
UKCCSG	<i>United Kingdom Children's Cancer Study Group</i>
VCR	Vincristina
WHO	<i>World Health Organization</i>
WNT	<i>Wingless (Wg)</i>



## ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
1. DEFINICIÓN.....	3
2. EPIDEMIOLOGÍA .....	3
2.1- INCIDENCIA .....	3
2.2- SUPERVIVENCIA .....	5
3. ETIOLOGÍA Y SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA .....	9
4. HISTOGÉNESIS .....	10
5. VARIANTES HISTOPATOLÓGICAS DEL MEDULOBLASTOMA .....	12
5.1- MEDULOBLASTOMA CLÁSICO.....	13
5.2- MEDULOBLASTOMA ANAPLÁSICO .....	13
5.3- MEDULOBLASTOMA DE CÉLULA GRANDE.....	14
5.4- MEDULOBLASTOMA NODULAR/DESMOPLÁSICO .....	15
5.5- MEDULOBLASTOMA CON NODULARIDAD EXTENSA (MBEN) .....	16
5.6- ACTUALIZACIÓN DE LA CLASIFICACIÓN DEL MEDULOBLASTOMA.....	17
6. DIAGNÓSTICO.....	18
6.1- PRESENTACIÓN CLÍNICA .....	18
6.2- ESTADIAJE .....	19
7. FACTORES PRONÓSTICOS.....	19
7.1- FACTORES CLÍNICOS.....	20
7.2- HISTOPATOLÓGICOS .....	21
7.3- MARCADORES MOLECULARES.....	22
7.4- ESTRATIFICACIÓN DE PACIENTES POR GRUPO DE RIESGO .....	25
8. TRATAMIENTO.....	26
8.1- PROTOCOLOS DE TRATAMIENTO .....	31
8.1.1- Tratamientos para pacientes de riesgo estándar.....	31
8.1.2- Tratamientos para pacientes de alto riesgo.....	33
8.1.3- Tratamientos para pacientes menores de 3-5 años.....	33
8.1.4- Tratamientos para pacientes con recaída .....	34
8.2- EFECTOS ADVERSOS ASOCIADOS AL TRATAMIENTO .....	35
9. AVANCES EN LA BIOLOGIA DEL MEDULOBLASTOMA .....	35

9.1- RUTA DE SEÑALIZACION WNT .....	36
9.2- RUTA DE SEÑALIZACION SHH .....	37
9.3- CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL MEDULOBLASTOMA BASADA EN PERFILES DE EXPRESIÓN GENÉTICA .....	38
9.3.1- Subgrupo WNT.....	39
9.3.2- Subgrupo SHH .....	40
9.3.3- Subgrupo 3.....	41
9.3.4- Subgrupo 4.....	41
<b>II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....</b>	<b>43</b>
1. HIPÓTESIS.....	45
2. OBJETIVOS.....	45
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS .....</b>	<b>47</b>
1. DISEÑO DEL ESTUDIO .....	49
2. POBLACIÓN DE ESTUDIO .....	49
2.1- OBTENCIÓN DE LOS CASOS.....	49
2.2- DESCRIPCION DE LA SERIE .....	49
3. DIAGNÓSTICO Y REVISIÓN HISTOPATOLÓGICA.....	51
4. EXTRACCIÓN DE ADN.....	51
5. INMUNOHISTOQUÍMICA.....	51
6. ANÁLISIS DE MUTACIONES EN EL GEN CTNNB1 .....	53
6.1- AMPLIFICACIÓN POR PCR .....	53
6.2- ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA.....	53
6.3- SECUENCIACIÓN.....	54
7. FISH.....	54
8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	55
<b>IV. RESULTADOS .....</b>	<b>59</b>
1. DESCRIPCIÓN DE LA SERIE .....	61
1.1- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E HISTOPATOLÓGICAS.....	61
1.2- DETERMINACIONES MOLECULARES .....	66
1.3- TRATAMIENTOS DEL MEDULOBLASTOMA .....	72

1.4- CARACTERIZACIÓN POR RIESGO .....	72
1.5- SUPERVIVENCIA .....	74
2. ANÁLISIS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA UNIVARIANTE Y MULTIMVARIANTE SEGÚN VARIABLES DE RIESGO .....	78
2.1- REGRESIÓN UNIVARIANTE .....	78
2.2- REGRESIÓN MULTIVARIANTE .....	79
3. ANÁLISIS BIVARIANTE DE LA SUPERVIVENCIA GLOBAL SEGÚN LOS FACTORES PRONÓSTICO .....	80
3.1- VARIABLE SEXO .....	80
3.2- VARIABLE EDAD .....	81
3.3- VARIABLE ESTADIO M .....	81
3.4- VARIABLE RESTO TUMORAL .....	83
3.5- VARIABLE HISTOLOGÍA .....	85
3.6- VARIABLE TRATAMIENTO .....	86
3.7- VARIABLE RIESGO CLÍNICO .....	86
3.8- VARIABLE RIESGO BIOLÓGICO .....	87
3.9- VARIABLE RIESGO CLÍNICO Y BIOLÓGICO .....	88
3.10- VARIABLE MYCC.....	89
3.11- VARIABLE MYCN .....	90
3.12- VARIABLE $\beta$ -CATENINA .....	91
3.13- VARIABLE p53 .....	92
3.14- SUPERVIVENCIA GLOBAL A 5 Y 10 AÑOS POR VARIABLE .....	93
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>95</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>113</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>116</b>



## I. INTRODUCCIÓN



## 1. DEFINICIÓN

La primera descripción del tumor la realizaron Bailey y Cushing<sup>2</sup> en 1925. Mientras clasificaban gliomas aislaron un tumor con identidad diferente que se presentaba principalmente en el cerebelo de los niños, y que llamaron Meduloblastoma (MB).

Aunque ha generado gran controversia desde entonces, hoy en día podemos definir el MB como un tumor embrionario del Sistema Nervioso Central (SNC) del grupo de neoplasias grado IV de la Organización Mundial de la Salud (OMS)<sup>3</sup>. Es un tumor de crecimiento rápido y conducta maligna que se desarrolla en la parte posterior del vermis cerebeloso y suelo neuroepitelial del IV ventrículo de los niños, con menor frecuencia en el cerebelo de los adultos.

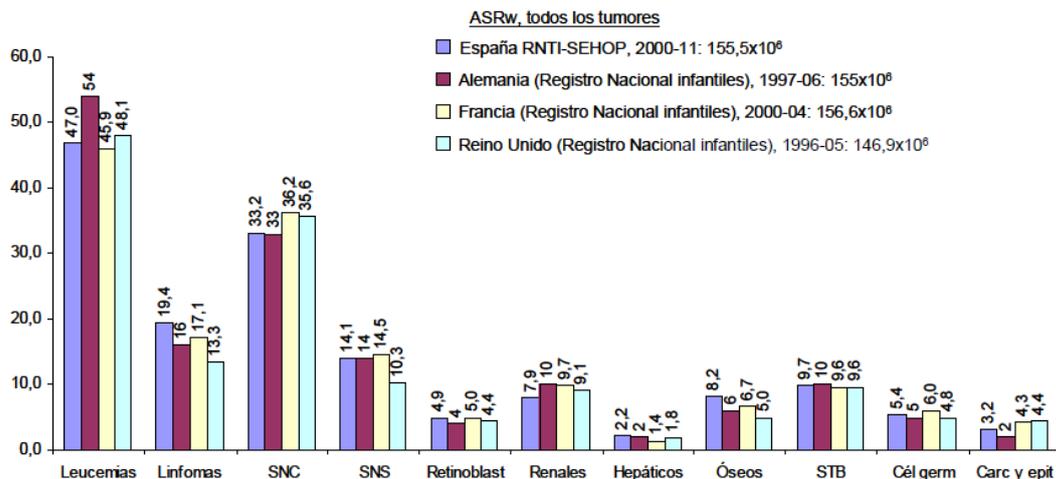
Como pasa generalmente en los tumores embrionarios, el MB tiene una gran tendencia a diseminarse a otras áreas del cerebro y a la médula espinal, lo que ocurre en el 35% de los casos al diagnóstico, y especialmente la probabilidad es mayor cuanto menor es la edad del niño<sup>4</sup>.

## 2. EPIDEMIOLOGÍA

### 2.1- INCIDENCIA

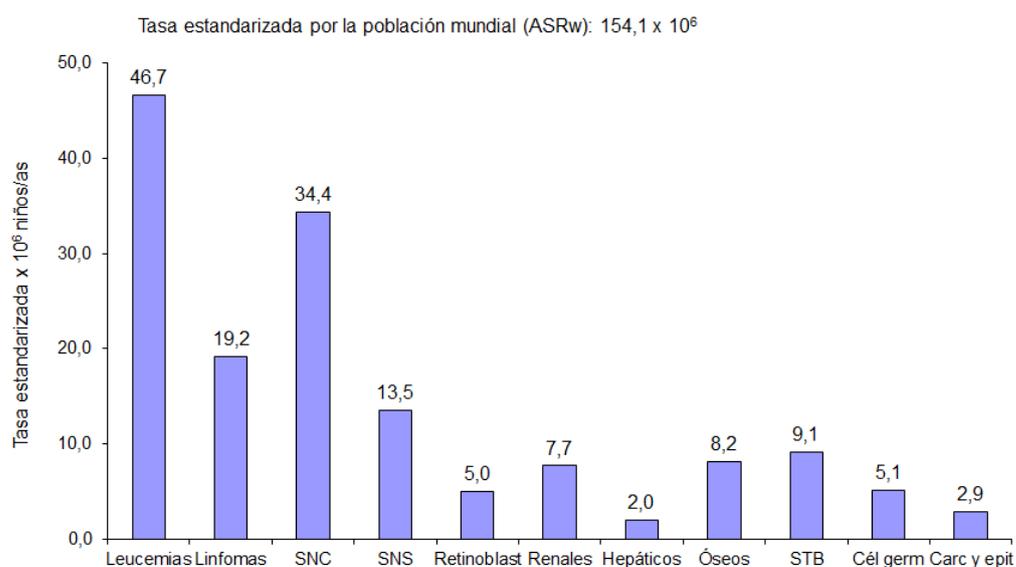
Los tumores malignos continúan siendo la primera causa de muerte por enfermedad en pediatría. La incidencia total del cáncer infantil en el mundo oscila entre 100 y 160 casos por millón de niños<sup>5-7</sup>, aunque las diferencias para tumores concretos pueden ser mayores.

La incidencia del cáncer infantil en España es similar a la de los países occidentales desarrollados (Figura 1), ya que se diagnostican aproximadamente 950-1100 niños con cáncer anualmente (146.6 casos x millón de niños de 0-14 años)<sup>8,9</sup>.



**Figura 1.** Incidencia del cáncer infantil en España y países europeos. Fuente: RETI-SEHOP (Febrero 2014)

Los tumores sólidos pediátricos con mayor incidencia son los del SNC, tanto en Europa como en Estados Unidos. La tasa de incidencia en estos países oscila entre 10-40 casos/año por millón de niños<sup>5-7,10,11</sup>. Según la base de datos europea de ACCIS (*Automated Childhood Cancer Information System*) la tasa de incidencia de estos tumores es más alta en los países del norte y en personas caucásicas, más que en otras etnias<sup>10,12</sup>. En España, el Registro Español de Tumores Infantiles (RETI-SEHOP) aporta una tasa estandarizada x10<sup>6</sup> niños/as, entre 0-14 años de edad, del 34.4%<sup>9,11</sup> (Figura 2).



**Figura 2.** Distribución por grupo diagnóstico de los tumores infantiles en España, 2000-2014, 0-14 años, ambos sexos, excluidos no clasificables en la ICC3. Fuente: RETI-SEHOP.

Los tumores cerebrales infantiles se caracterizan por englobar un grupo heterogéneo de histologías y localizaciones (el 60% son infratentoriales), y una conducta biológica, respuesta al tratamiento y pronóstico que los hace diferentes de los diagnosticados en los adultos. Por grupo de mayor a menor incidencia están los astrocitomas (38-50%), los meduloblastomas (16-25%), los ependimomas (8-14%) y otros gliomas (4-16%)<sup>5</sup>.

El MB es el tumor embrionario maligno más frecuente del SNC en la edad pediátrica. En Estados Unidos, se diagnostican alrededor de 500 niños con MB al año<sup>13,14</sup>, en el Reino Unido, aproximadamente 90 casos cada año<sup>15</sup>, y en España, la incidencia anual media en la última década es de 15 casos/año<sup>9</sup>. En cifras generales, podríamos hablar de 5-6 casos por millón de niños al año, tasa que no ha variado en el tiempo<sup>3,16</sup>.

Por razones que se desconocen, el MB presenta una frecuencia mayor en niños que en niñas, con una relación varón/mujer de 1.5:1<sup>3,17,18</sup>.

Si consideramos la edad al diagnóstico, la frecuencia del MB es de un 10-15% en los niños menores de 3 años<sup>19</sup>. Las tasas más elevadas corresponden a la franja de edad de 5 a 10 años<sup>6,10,11,20</sup>, y es destacable que el 70% de los pacientes se diagnostican antes de los 16 años<sup>21</sup>. Por otra parte, la enfermedad es poco frecuente en adultos, dado su origen embrionario, representando menos del 1% de los tumores del SNC<sup>22</sup>.

## 2.2- SUPERVIVENCIA

En general, las tasas de supervivencia para el cáncer infantil oscilan entre el 60% y el 83% en la mayoría de los países<sup>6</sup>. Actualmente en Estados Unidos la supervivencia a 5 años es del 83%<sup>23</sup> y en Europa es del 81%<sup>6</sup>, mientras que el RETI indica que en España es del 77%<sup>9</sup> (Tabla 1).

**Tabla 1.** Todos los tumores. Seguimiento y supervivencia a 3 y 5 años del diagnóstico por cohortes de año de incidencia. 0-14 años, 1980-2011. Fuente: RETI-SEHOP

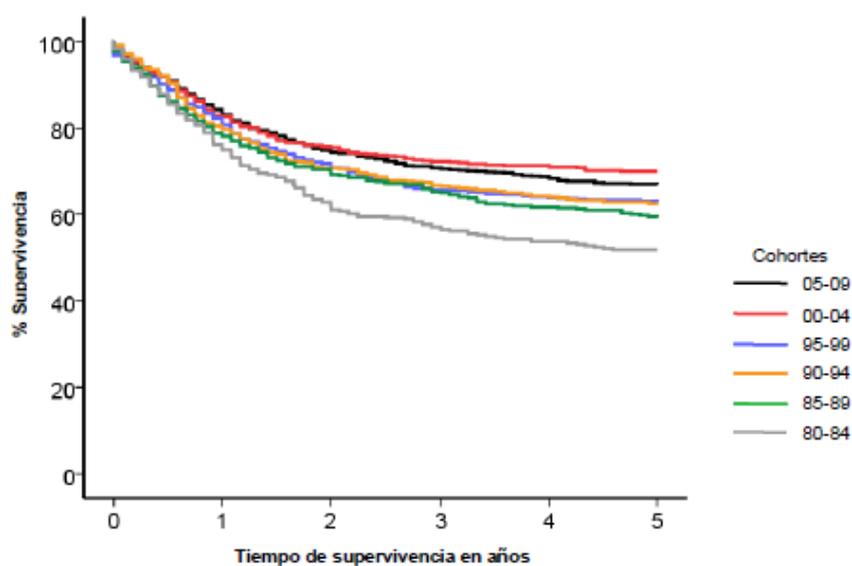
Cohortes de incidencia	n	% seguimiento		% supervivencia	
		>=3 años	>=5 años	3 años	5 años
80-84	1.944	96,8	96,4	58(56-60)	54(51-56)
85-89	2.543	96,9	96,1	68(66-70)	63(61-65)
90-94	3.026	96,1	94,8	73(72-75)	69(67-70)
95-99	3.107	97,5	96,5	77(75-78)	73(72-75)
00-04	3.211	97,2	95,6	79(78-81)	76(75-78)
05-09	4.413	97,6	94,6	80(79-81)	77(76-78)
10-11	1.998	95,4		83(82-85)	
<b>Total 80-09</b>	<b>18.244</b>		<b>95,5</b>		
<b>TOTAL 80-11</b>	<b>20.242</b>	<b>96,9</b>			

A lo largo de las últimas décadas los avances en las técnicas diagnósticas (incluyendo el campo de la genética y biología molecular), junto a las mejoras asistenciales y el acceso a las mismas, han facilitado un diagnóstico precoz y han aumentado considerablemente la tasa de supervivencia del cáncer pediátrico en los países desarrollados. En Europa se ha registrado un aumento del 29% desde finales de los años 70 a la actualidad<sup>6</sup>.

Los niños diagnosticados con tumores del SNC tradicionalmente han tenido tasas de supervivencia bajas. Aunque en los últimos años ha habido una mejoría del 44% al 66%, los supervivientes presentan un mayor porcentaje de secuelas que comprometen su calidad de vida futura en comparación con supervivientes de tumores en otras localizaciones. Según los registros más importantes de cáncer infantil, la supervivencia a 5 años es del 64% (ACCIS)<sup>24</sup> y 66% (SEER: US-Surveillance, Epidemiology and End Results)<sup>25</sup>. Como se puede observar en los datos facilitados por el RETI (Tabla 2 y Figura 3), la tasa de supervivencia en España tiene valores parecidos (67%)<sup>9</sup>.

**Tabla 2.** Seguimiento y supervivencia a 3 y 5 años del diagnóstico de tumores pediátricos del SNC, por cohortes de año de incidencia. 0-14 años, 1980-2011. Fuente: RETI-SEHOP.

Cohortes de incidencia	n	% seguimiento		% supervivencia	
		>=3 años	>=5 años	3 años	5 años
80-84	350	94,3	92,3	57(52-62)	52(46-57)
85-89	472	92,2	89,6	65(61-70)	59(55-64)
90-94	574	92,2	90,1	67(63-71)	62(58-66)
95-99	660	95,9	93,9	66(62-69)	63(59-67)
00-04	655	95,9	93,7	72(69-76)	70(66-74)
05-09	995	96,5	93,4	71(68-74)	67(64-70)
10-11	433	94,0		72(68-77)	
Total 80-09	3.706		92,4		
TOTAL 80-11	4.139	94,8			



**Figura 3.** Supervivencia a 5 años del diagnóstico de tumores pediátricos del SNC, por cohortes de año de incidencia. 0-14 años, 1980-2009. Fuente: RETI-SEHOP.

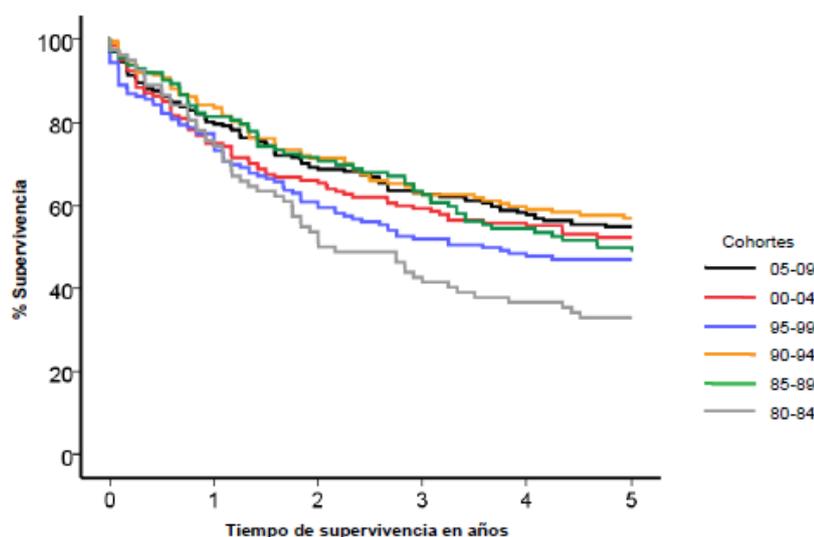
En el caso del MB, gracias a los resultados obtenidos a partir de estudios multicéntricos y aleatorizados (ensayos clínicos (EC)) iniciados a finales de los años setenta, se identificaron una serie de factores pronóstico que permitieron estratificar a los pacientes según el riesgo. Así, para los pacientes de riesgo estándar se describen supervivencias a los 5 años del 70-85%<sup>26-28</sup>, mientras que para los de alto riesgo la supervivencia suele ser baja (30-40%)<sup>29-32</sup>, aunque algunos estudios han observado supervivencias hasta un 70%<sup>28,33-35</sup>.

Actualmente, los índices de supervivencia dependen del subtipo molecular de MB (WNT, SHH, Grupo 3 y Grupo 4), con tasas de curación para pacientes del grupo WNT cercanas al 90%, mientras que para el Grupo 3 es de tan solo 40-60%<sup>36,37</sup>.

En España, la supervivencia global para los pacientes con MB es del 55% a 5 años desde el diagnóstico (Tabla 3 y Figura 4).

**Tabla 3.** Seguimiento y supervivencia a 3 y 5 años del diagnóstico de Meduloblastomas/PNET, por cohortes de año de incidencia. 0-14 años, 1980-2011. Fuente: RETI-SEHOP.

Cohortes de incidencia	n	% seguimiento		% supervivencia	
		>=3 años	>=5 años	3 años	5 años
80-84	85	96,5	96,5	43(32-53)	33(23-43)
85-89	116	95,7	94,8	64(55-72)	49(40-58)
90-94	161	90,7	89,4	63(56-71)	57(49-65)
95-99	147	98,6	98,0	52(44-60)	47(39-55)
00-04	149	98,0	97,3	59(51-67)	52(44-60)
05-09	213	99,1	96,7	63(57-70)	55(48-62)
10-11	89	98,9		63(53-73)	
<b>Total 80-09</b>	<b>871</b>		<b>95,4</b>		
<b>TOTAL 80-11</b>	<b>960</b>	<b>96,8</b>			



**Figura 4.** Supervivencia a 5 años del diagnóstico de Meduloblastomas/PNET, por cohortes de año de incidencia. 0-14 años, 1980-2009. Fuente: RETI-SEHOP.

### 3. ETIOLOGÍA Y SUSCEPTIBILIDAD GENÉTICA

Hasta la fecha se desconoce la etiología exacta del MB. Como en la mayoría de tumores pediátricos de origen embrionario, no se han podido establecer factores de riesgo ambientales. Sin embargo, sí parece existir una predisposición genética (riesgo de transmisión) al MB. Así, existen síndromes hereditarios en los que los tumores cerebrales forman parte del fenotipo. Además, familiares de primer grado de pacientes con MB presentan una tasa más elevada de cáncer<sup>38</sup>.

El estudio de los defectos genéticos que causan algunas enfermedades raras como son el Síndrome de Gorlin (carcinoma basocelular nevoide), el Síndrome de Turcot (poliposis intestinal adenomatosa familiar) o el síndrome de Li-Fraumeni (Síndrome de predisposición familiar al cáncer, asociado a alteraciones de *TP53*), ha revelado la gran implicación de éstos en el desarrollo del MB esporádico.

Por ejemplo, un 2% de pacientes con síndrome de Gorlin presenta un MB en los dos primeros años de vida<sup>39</sup>. El síndrome de Gorlin (entre el 40% y el 85%) se identifica con mutaciones germinales en heterocigosis del gen *PTCH1*<sup>40-43</sup>. Así la inactivación del locus *PTCH1* por delección o mutación se ha encontrado en el 10% de los MB esporádicos<sup>44</sup>. Esto sugiere que *PTCH1* funciona como un supresor tumoral clásico en este tipo tumoral<sup>45,46</sup>. Asimismo, estudios de mutaciones germinales en el gen *SUFU*, que es un regulador negativo de la vía SHH, predispone en un 33% a MB<sup>47</sup> en el síndrome de Gorlin clásico. Las mutaciones germinales de *SUFU* (o raramente *PTCH1*) son más prevalentes en niños con MB <3 años.

Las mutaciones germinales en *TP53*, relacionadas con el síndrome de Li-Fraumeni, son especialmente comunes entre 8 y 17 años<sup>48,49</sup>. Existen escasos datos en la literatura por limitaciones éticas de los ensayos clínicos en menores de edad y relacionadas con el consentimiento informado de las familias. Aunque este síndrome está descrito que predispone al desarrollo del meduloblastoma, solo del 7% al 10% de pacientes con este tumor se les ha identificado una mutación genética en línea germinal<sup>19,50-54</sup>.

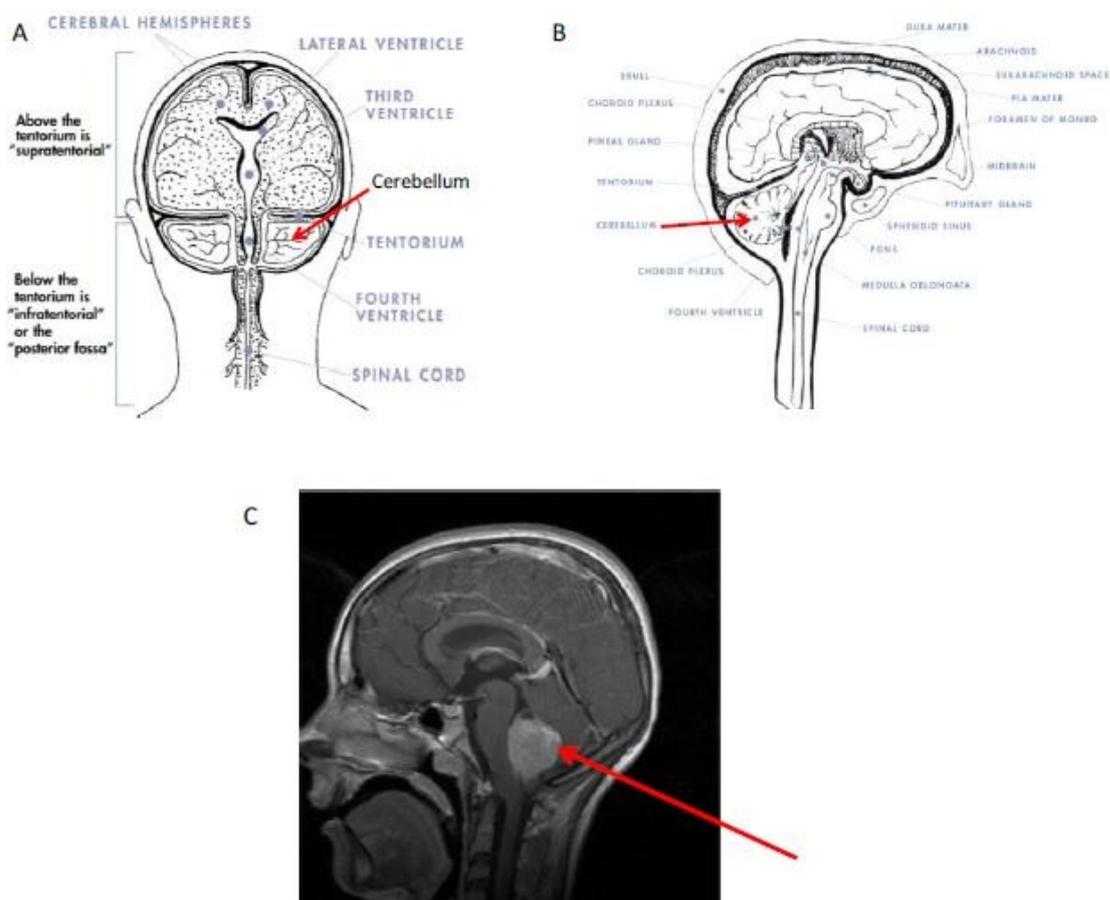
Los individuos afectados de síndrome de Turcot, que es autosómico dominante, se les atribuyen mutaciones germinales que predisponen a padecer MB (asociado a mutaciones en *APC*) o glioblastoma multiforme (asociado con mutaciones en *MLH1* o

*PMS2*)<sup>55</sup>. La proteína APC controla la actividad de  $\beta$ -catenina, que es la molécula central de la vía de señalización WNT.

Aun así, menos del 5% de pacientes con MB están asociados al cáncer hereditario.

#### 4. HISTOGÉNESIS

El origen y naturaleza de este tumor no está claro y ha generado gran controversia desde la descripción inicial del mismo. El cerebelo constituye solo el 10% del volumen del cerebro, aun así, hay más cantidad de neuronas en este pequeño espacio que en el resto del cerebro<sup>56</sup>.



**Figura 5.** Anatomía del cerebro y localización del meduloblastoma (American Brain Tumor Association Web; <http://www.abta.org/understanding-brain-tumors/anatomy/physical-structure.html>)

Como el MB es un tumor embrionario con capacidad de diferenciación divergente, las teorías existentes sobre histogénesis se han centrado en las células pluripotenciales involucradas en el desarrollo del cerebro para explicar su heterogeneidad.

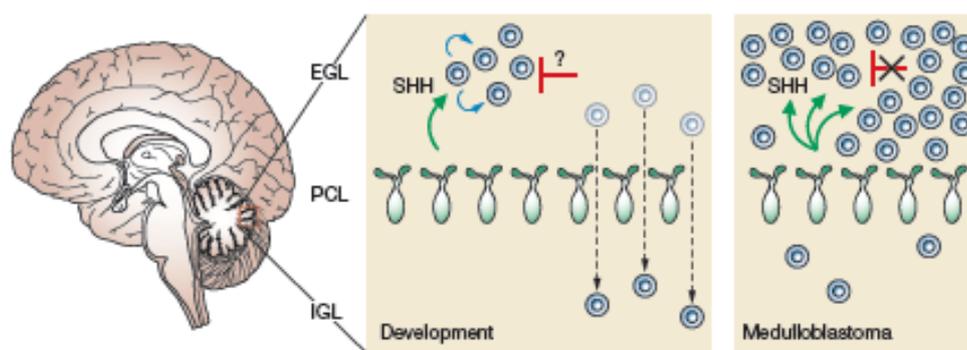
Las dos teorías más aceptadas en la actualidad son las siguientes<sup>57-59</sup>:

➤ La primera sugiere que el MB tiene su origen en la capa granulosa externa del cerebelo, que se forma durante la embriogénesis a partir de células indiferenciadas que migran desde el techo del cuarto ventrículo a la superficie del cerebelo fetal. En el embrión de 6 semanas, la capa granulosa externa comienza a diferenciarse en diversos tipos celulares que emigran hacia el interior para dar origen a la capa granulosa interna. La capa granulosa externa termina por quedarse sin células y da origen a la capa molecular o plexiforme. Esta hipótesis se sustenta en:

1) la proliferación de precursores neuronales en la capa granulosa externa está controlada por Sonic Hedgehog (SHH) (un mitógeno secretado por las células de Purkinje, y que forma parte de una de las vías de señalización intracelular de mayor importancia en MB).

2) la existencia de modelos murinos de MB obtenidos a través de la activación de la vía SHH.

3) las similitudes en el patrón de expresión génica entre las células de MB y las células de la capa granulosa externa del cerebelo en desarrollo.



**Figure 6.** Desarrollo de las células granulares y tumorigenesis del meduloblastoma.

EGL: capa granulosa externa, GCP: precursor de células granulares, IGL: capa granulosa interna, SHH: vía Sonic Hedgehog, PCL: capa de células de Purkinje<sup>60</sup>.

➤ La segunda teoría sugiere que los MB derivan de las células de la matriz germinal subependimaria (células madre precursoras, presentes en diversas localizaciones del SNC embrionario, que darán lugar a las células neuronales y gliales durante el desarrollo). Aquí estaría implicada la vía de señalización WNT. Según esta teoría, los tumores embrionarios de localización supratentorial tendrían este mismo

origen común con los MB infratentoriales. Sin embargo, esta se ha visto criticada recientemente porque, aunque las características histológicas sean muy similares, las alteraciones genéticas de los tumores embrionarios supratentoriales y de los MB son distintas.

➤ Recientemente se ha propuesto una tercera teoría, fundamentada en estudios de inmunoreactividad, que propone que los MB se pueden originar a través de más de un tipo celular (el tipo clásico emergería de la matriz ventricular y el desmoplásico de la capa granular), o que existen otras posibles células progenitoras en otras localizaciones (p.ej., células madres presentes en la sustancia blanca del cerebelo postnatal)<sup>61,62</sup>.

### **5. VARIANTES HISTOPATOLÓGICAS DEL MEDULOBLASTOMA**

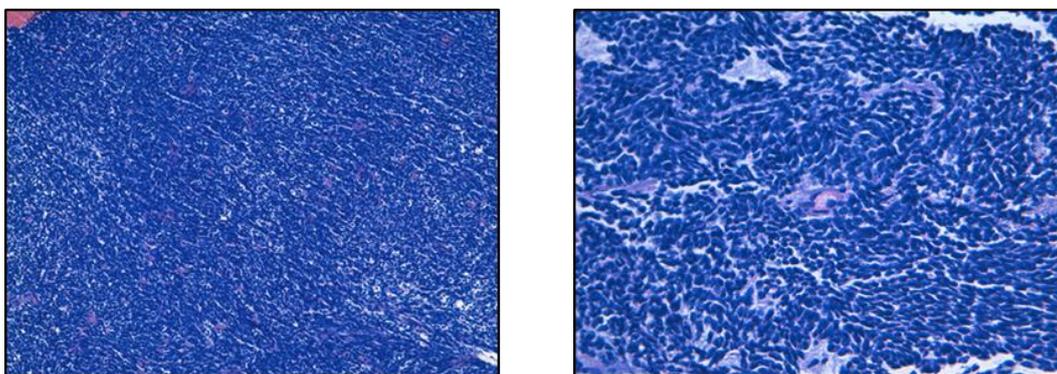
A lo largo de la historia, la gran variedad morfológica y citológica de los tumores derivados del neuroepitelio y su potencial evolución a formas malignas han originado la coexistencia de diferentes clasificaciones para el MB.

En 1983, en un intento de solucionar la controversia, se agruparon todos los tumores de célula pequeña y características clínicas similares del SNC y con origen común a partir de una célula primitiva indiferenciada, con el termino PNET<sup>63,64</sup>. Sin embargo, con la introducción de los perfiles de expresión genética, Pomeroy y cols<sup>65</sup> demostraron que los tumores cerebrales embrionarios son un grupo heterogéneo de neoplasias y que debían clasificarse según la localización del tumor, la histología y el patrón de diferenciación. Por ello, en la clasificación WHO del 2007<sup>66</sup>, dentro de los tumores embrionarios del SNC, el MB quedó definido como un tumor embrionario del cerebelo de grado IV (equivalente al grado más alto de malignidad histológica definida para los tumores cerebrales), maligno e invasivo, con una diferenciación sobre todo neuronal y una tendencia inherente a metastatizar a lo largo del SNC.

En esta clasificación se reconocen cinco tipos histológicos de MB: Clásico, Anaplásico, Célula Grande, Nodular/Desmoplásico y con Nodularidad Extensa (MBEN).

### 5.1- MEDULOBLASTOMA CLÁSICO

Es el subtipo más común (70-80%)<sup>15,44,67</sup>. Se compone de células indiferenciadas pequeñas densamente empaquetadas, caracterizadas por núcleos hipercromáticos redondos a ovales o con forma de zanahoria. La actividad mitótica es significativamente elevada, pero puede variar entre distintas áreas tumorales. Hasta el 40% de los MB muestran formación de rosetas neuroblásticas (Homer-Wright)<sup>68</sup>. El MB clásico carece de áreas con el típico patrón bifásico de reticulina/islas del MB desmoplásico/nodular o MB con nodularidad extensa. Algunos casos muestran evidencia inmunohistoquímica de diferenciación neuronal temprana como la expresión de sinaptofisina. Además, se pueden encontrar células con diferenciación astrocítica, miogénica o melanocítica. Sin embargo, la diferenciación astrocítica o ependimaria es inusual en el MB clásico. Tanto la anaplasia citológica marcada, como el elevado pleomorfismo nuclear pueden ocurrir focalmente. Sin embargo, la anaplasia citológica difusa y severa no es compatible con el diagnóstico de MB clásico, pero lo cualifica para el diagnóstico de MB anaplásico. De forma parecida, grupos de células tumorales pueden mostrar los rasgos citológicos típicos de los MB de células grandes. Si el cuadro histológico está dominado por éstos, se ha de hacer el diagnóstico de MB de células grandes.

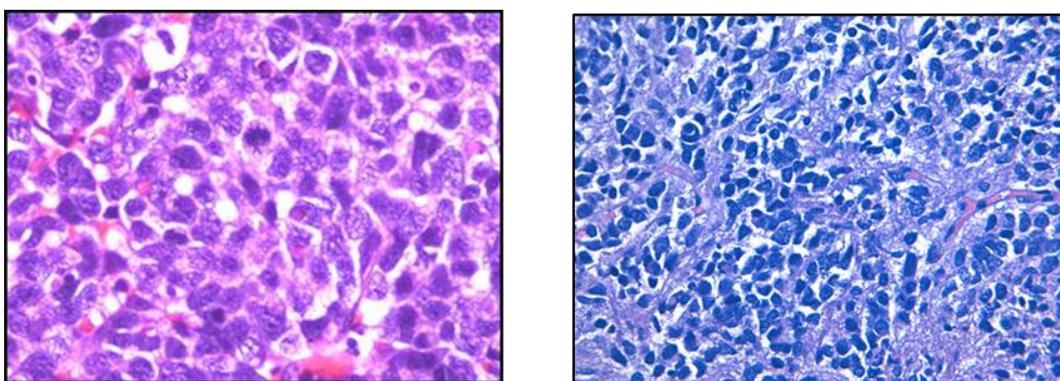


**Figura 7.** Medulloblastoma clásico. Imágenes de archivo propio HUC.

### 5.2- MEDULOBLASTOMA ANAPLÁSICO

Las características anaplásicas son el aumento del tamaño nuclear, el pleomorfismo citológico marcado, las mitosis numerosas y los cuerpos apoptóticos<sup>69,70</sup>. El uso de los criterios de anaplasia es subjetivo porque la mayoría de los MB presentan algún grado

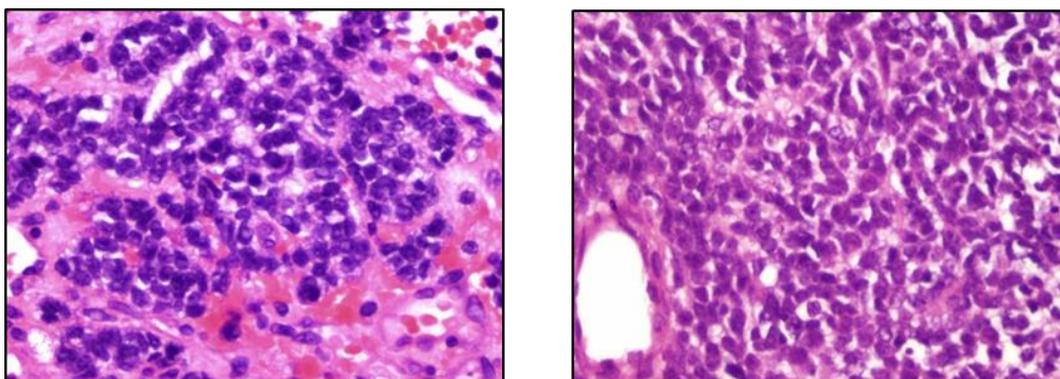
de anaplasia. Los focos de anaplasia pueden aparecer en tumores con características histológicas de MB clásico y de célula grande, y hay una superposición significativa entre la variante celular anaplásica y la de célula grande, por ello en muchos estudios se han combinado los dos como tipo célula grande/anaplásico<sup>44</sup>. Se ha convenido en declarar los MB como anaplásicos cuando la anaplasia es difusa (variablemente definida como la anaplasia que se presenta en 50 a 80% del tumor). A nivel molecular, se ha mostrado que ambos, tanto el MB de células grandes como el anaplásico se asocian con amplificación del gen *MYCC*. Pero no todos los casos de célula grande y anaplásicos muestran amplificación *MYCC*, y la relevancia pronóstica de la histología en ausencia de anomalías en *MYC* no está clara. Estos tumores suponen el 10-20% de los MB<sup>44</sup>.



**Figura 8.** Meduloblastoma Anaplásico. Imágenes de archivo propio HUC.

### 5.3- MEDULOBLASTOMA DE CÉLULA GRANDE

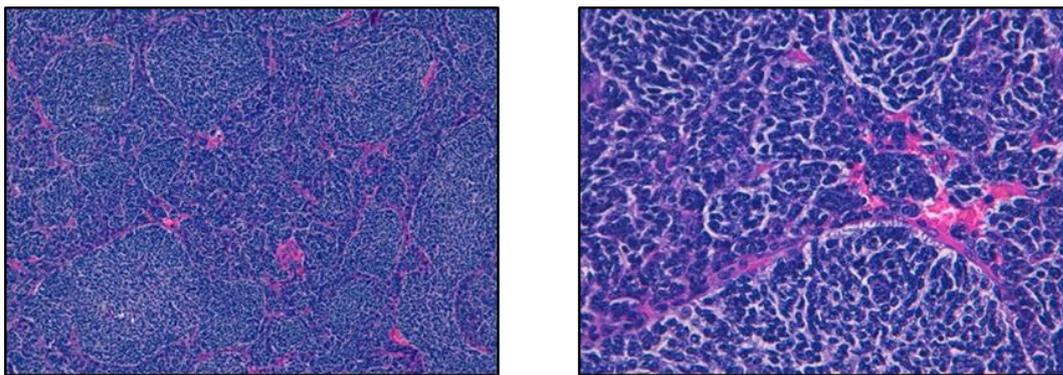
Los tumores de célula grande suponen 4% de los MB<sup>64,67</sup> y se caracterizan por células monomórficas con núcleo vesiculoso redondo y grande, nucléolo único prominente y cantidades variables de citoplasma eosinofílico. Las células frecuentemente carecen de cohesividad y las mitosis, así como las figuras de apoptosis, son frecuentes. Estas células han de ser predominantes en el espécimen. Su existencia focal no lo cualifica para el diagnóstico de esta variante. Los MB de células grandes frecuentemente muestran una reactividad para sinaptofisina en patrón dot-like. El impacto clínico de esta variante rara, con un comportamiento altamente agresivo ha sido descrito en varios artículos. Frecuentemente va asociada a enfermedad metastásica<sup>71</sup> y a un mal pronóstico<sup>72,73</sup>.



**Figura 9.** Meduloblastoma de Célula Grande. Imágenes cedidas por el Dr. Joan Carles Ferreres sobre un caso del estudio.

#### 5.4- MEDULOBLASTOMA NODULAR/DESMOPLÁSICO

Esta variante que se observa en el 10-15% de los MB<sup>64,67</sup> fue descrita por Rubinstein y Northfield (1964)<sup>74</sup> como una variante de tumor neuroectodérmico, pobremente diferenciado, superponible al tipo clásico en términos generales. Se caracteriza por islas tumorales nodulares libres de reticulina rodeadas por áreas con células tumorales proliferativas densamente empaquetadas que producen una red de fibras de reticulina intercelular densa. Incluso si este patrón típico se presenta solo focalmente, un espécimen de MB ha de ser clasificado como MB nodular/desmoplásico. Las islas de MB nodular/desmoplásico muestran frecuentemente una actividad mitótica y proliferativa más baja y signos de diferenciación neuronal temprana. Los casos con apariencia nodular, pero sin la típica red de fibras no se clasifican como MB nodular/desmoplásico. Los MB que muestran únicamente un incremento en el contenido de fibras sin el típico patrón bifásico (islas) no se clasifican como MB nodular/desmoplásico. Tal inducción inespecífica de fibras puede ocurrir como reacción desmoplásica cuando los tumores crecen superficialmente dentro de áreas leptomeníngeas. Molecularmente estos tumores se asocian a mutaciones que inactivan el gen *PTCH*.

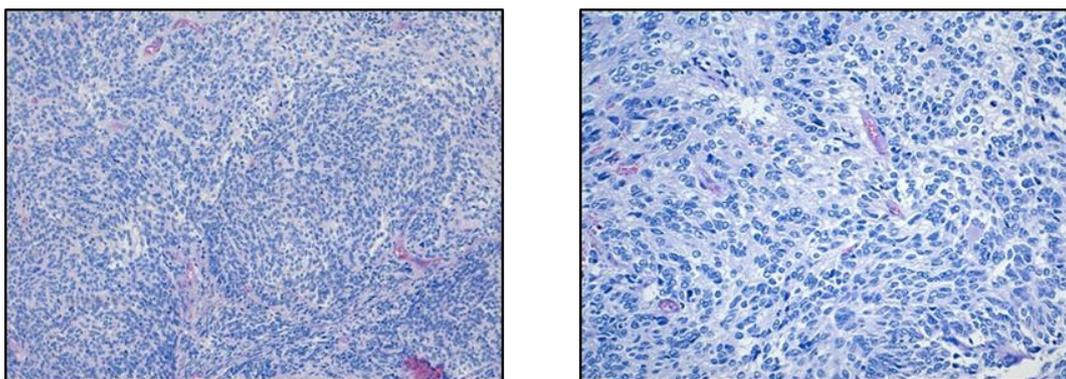


**Figura 10.** Meduloblastoma Nodular/Desmoplásico. Imágenes de archivo propio HUC.

La desmoplasia se observa generalmente en niños muy pequeños, en un 50% de los tumores de niños <3 años al diagnóstico, y solo en un 5% de los tumores en pacientes de 3-15 años<sup>67</sup>. Existen muchos estudios que demuestran que este subtipo tiene mejor pronóstico que otros fenotipos histológicos en la infancia<sup>67,75-77</sup>, mientras que su significado fuera de este grupo de edad no es tan clara<sup>67</sup>.

### 5.5- MEDULOBLASTOMA CON NODULARIDAD EXTENSA (MBEN)

Esta variante está muy cercana a la nodular/desmoplásica, muestra un patrón bifásico similar; sin embargo, las islas libres de reticulina con menor celularidad están agrandadas y contienen células tumorales de tipo neurocito isomorfas con núcleos redondos y baja actividad mitótica embebidas en una matriz de tipo neuropílico. Inmunohistoquímicamente, estas células expresan marcadores de diferenciación neurocítica avanzada como NeuN. Estas áreas de diferenciación avanzada han de dominar la histología para poder clasificarlo como MB con modularidad extensa. Las células de las áreas ricas en reticulina semejan su contrapartida en los MB nodular/desmoplásicos. Presenta una desregulación en la señalización SHH. Los MB con nodularidad extensa se presentan en menos del 1-2% de los MB y casi exclusivamente en lactantes<sup>67</sup>. Se asocian a un pronóstico excelente, teniendo en cuenta que el MB en niños pequeños tiene muy mal pronóstico<sup>78,79</sup>.



**Figura 11.** Medulloblastoma con Nodularidad Extensa (MBEN). Imágenes de archivo propio HUC.

#### 5.6- ACTUALIZACIÓN DE LA CLASIFICACIÓN DEL MEDULOBLASTOMA

En la última actualización de tumores del sistema nervioso central de WHO en 2016<sup>3</sup>, se han vuelto a introducir cambios en el MB, uniendo el esquema molecular que se consensó en el 2012<sup>80</sup> a la clasificación histopatológica que ya existía y que se mantiene por su relevancia clínica. Las variantes histológicas y moleculares están asociadas con pronósticos y terapias diferentes, pero en vez de hacer un solo listado con todas las combinaciones posibles, se han dejado por separado las variantes “definidas histológicamente” y las “definidas molecularmente” (Tabla 4). Esto permitirá a los patólogos realizar un diagnóstico integrado, asociando grupo molecular con fenotipo histológico.

En esta actualización también se observa que el MB de célula grande y los anaplásicos, que en la anterior clasificación estaban por separado, se han combinado en una sola categoría denominada MB de célula grande y anaplásico o LCA (Large Cell Anaplastic), porque casi todos los MB de célula grande muestran un componente anaplásico y ambos se asocian con enfermedad metastásica y con un mal pronóstico<sup>72,81-</sup>

83.

**Tabla 4.** Clasificación WHO 2016 de los tumores embrionarios del SNC. Adaptado de Louis y cols (2016)<sup>3</sup>.

Embryonal tumours	
Medulloblastomas, genetically defined	
Medulloblastoma, WNT-activated	9475/3*
Medulloblastoma, SHH-activated and <i>TP53</i> -mutant	9476/3*
Medulloblastoma, SHH-activated and <i>TP53</i> -wildtype	9471/3
Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH	9477/3*
<i>Medulloblastoma, group 3</i>	
<i>Medulloblastoma, group 4</i>	
Medulloblastomas, histologically defined	
Medulloblastoma, classic	9470/3
Medulloblastoma, desmoplastic/nodular	9471/3
Medulloblastoma with extensive nodularity	9471/3
Medulloblastoma, large cell / anaplastic	9474/3
Medulloblastoma, NOS	9470/3
Embryonal tumour with multilayered rosettes, C19MC-altered	9478/3*
<i>Embryonal tumour with multilayered rosettes, NOS</i>	9478/3
Medulloepithelioma	9501/3
CNS neuroblastoma	9500/3
CNS ganglioneuroblastoma	9490/3
CNS embryonal tumour, NOS	9473/3
Atypical teratoid/rhabdoid tumour	9508/3
CNS embryonal tumour with rhabdoid features	9508/3

## 6. DIAGNÓSTICO

### 6.1- PRESENTACIÓN CLÍNICA

El MB, como el resto de los tumores cerebrales, produce principalmente unos síntomas y unos signos derivados de su crecimiento local, con mayor predisposición a diseminarse a lo largo del sistema nervioso. El tiempo medio entre la aparición de los síntomas y el diagnóstico varía de 2 a 5 meses<sup>84,85</sup>. Existe escasa evidencia de que el mayor tiempo transcurrido hasta el diagnóstico del MB se asocie a peor pronóstico de la enfermedad como podríamos aventurar *a priori*<sup>85,86</sup>.

Los síntomas más frecuentes suelen deberse al aumento de presión intracraneal por la hidrocefalia secundaria producida por el crecimiento del tumor, dando lugar en la mayoría de los pacientes (70-80%) a cefaleas, vómitos, ataxia, irritabilidad, papiledema, diplopía y nistagmo<sup>87</sup>. En los niños más pequeños la sintomatología es más inespecífica, como irritabilidad, letargo, macrocefalia (debido a apertura de fontanelas y suturas), estrabismo y retraso en el desarrollo neurológico<sup>84</sup>.

En función de que el origen del tumor sea el vermis o los hemisferios cerebelosos, será más llamativa la presencia de una ataxia truncal o una disimetría de las extremidades, respectivamente. De forma progresiva, según el tumor comprima o invada el troncoencéfalo, aparecen síntomas más característicos, como empeoramiento de la ataxia, pérdida de audición, inclinación de la cabeza, rigidez del cuello o disminución en la fuerza muscular.

Los pacientes con enfermedad diseminada pueden presentar signos y síntomas de compresión medular por la diseminación al canal espinal o convulsiones si la extensión es a hemisferios cerebrales<sup>17</sup>.

## 6.2- ESTADIAJE

Chang<sup>88</sup> en 1969 diseñó un sistema de estadiaje fundamental para seleccionar la estrategia de tratamiento adecuada para MB adaptando la clasificación TNM a estos tumores, aceptada universalmente y todavía vigente (Tabla 5). La diseminación del tumor se determina preoperatoriamente mediante resonancia magnética de imagen (RMI) de todo el eje cerebroespinal, además del análisis citológico del líquido cefalorraquídeo (LCR) deseablemente 15 días después de la cirugía evitando el falso dato del vertido traumático.

## 7. FACTORES PRONÓSTICOS

Una de las contribuciones más importantes de los ensayos aleatorizados de MB es la identificación de factores pronóstico relacionados estrechamente con los tratamientos y la supervivencia. Por ello, a los parámetros clínicos clásicos referentes al pronóstico del MB hay que sumarles los perfiles histopatológico y molecular, que actualmente se consideran valorables en la estratificación del riesgo y, por lo tanto, influyentes en la conducta biológica y la respuesta al tratamiento<sup>4</sup>.

**Tabla 5.** Sistema de estadificación de Chang para meduloblastoma<sup>88</sup>.

ESTADIO	DEFINICION
<u>TUMOR</u>	
T1	Tumor de <3cm de diámetro y limitada a la porción media del vermis, el lecho del cuarto ventrículo y menos frecuente los hemisferios cerebelosos
T2	Tumor de >3cm de diámetro, invadiendo una estructura adyacente o parcialmente llenando el cuarto ventrículo
T3	Se divide entre T3a y T3b
T3a	Tumor que invade dos estructuras adyacentes o que llenan completamente el cuarto ventrículo con extensión hacia el acueducto de Silvio, foramen de Magendie o el foramen de Luscka, produciendo hidrocefalia acentuada
T3b	Tumor que se origina del piso del cuarto ventrículo o del puente y que llena el cuarto ventrículo
T4	Tumor que se extiende a través del acueducto de Silvio para involucrar el tercer ventrículo o que se extiende a la porción superior del cordón cervical
<u>METASTASIS</u>	
M0	Sin evidencia macroscópica de metástasis subaracnoidea o hematógena
M1	Células tumorales microscópicas en el líquido cefalorraquídeo
M2	Siembras nodulares presentes en el espacio subaracnoideo cerebral o en los ventrículos tercero o laterales
M3	Siembras nodulares en el espacio subaracnoideo espinal
M4	Metástasis fuera del neuroeje

### 7.1- FACTORES CLÍNICOS

La edad del paciente, la extensión de la enfermedad al diagnóstico (presencia de metástasis) y el tamaño del tumor residual después de la resección son los más importantes<sup>29,30,89</sup>.

- Edad del paciente: aunque para la mayoría de los autores, los pacientes menores de 3 años presentan un pronóstico más desfavorable<sup>30,90</sup>, el impacto de la edad en la supervivencia es un factor difícil de valorar, principalmente porque no existe unanimidad a la hora de definir los rangos para agrupar los pacientes. Además algunos autores no han encontrado relación entre edad y pronóstico<sup>91-93</sup>. Las razones de este pronóstico tan desfavorable son la diferencia en el comportamiento biológico, y las secuelas

neuropsicológicas y neuroendocrinas producidas por las dosis de radioterapia (RT) en el cerebro en desarrollo.

- Extensión de la enfermedad al diagnóstico: la presencia de metástasis y diseminación a otras áreas del cerebro o de la médula espinal o al LCR, es el factor pronóstico peor consensuado por diversos autores<sup>29,94-96</sup>, incluyendo estudios prospectivos aleatorizados (uno del grupo de estudio del cáncer infantil americano (CCSG)<sup>31</sup> y otro de la SIOP<sup>97</sup>). Hay algunos estudios que no han encontrado diferencias importantes entre pacientes M0 y M1<sup>30,96</sup>. El 30% de los niños presentan enfermedad diseminada al diagnóstico<sup>90,95</sup>.
- Enfermedad residual: la resección total o casi total del tumor es un indicador de mejor pronóstico, aunque varía según los estudios<sup>15,30,92,98</sup>. En general, el tumor residual mínimo está definido como resto tumoral  $<1.5 \text{ cm}^2$  tras la cirugía<sup>30,98</sup>, y en la mayoría de ensayos internacionales se excluyen del grupo de riesgo estándar los pacientes con mayor resto tumoral ( $\geq 1.5 \text{ cm}^2$ ). Para la estimación de la enfermedad residual se deben comparar las imágenes de RMI del preoperatorio con las del postoperatorio (72 h post cirugía)<sup>15</sup>.

## 7.2- HISTOPATOLÓGICOS

Por definición, el MB es un tumor de célula pequeña que corresponde a un grado histológico de malignidad IV de la clasificación WHO<sup>3</sup>. Sin embargo, es una neoplasia altamente heterogénea en cuanto al patrón histológico, porque presenta características tisulares de baja malignidad (desmoplasia y nodularidad) en algunos casos y características citológicas de alta malignidad (pleomorfismo celular y nuclear) en otros. Así como otras de proliferación celular, grado de necrosis y grado de vascularización intratumoral.

De acuerdo a la actual clasificación del MB, los tumores con diferenciación miogénica o melanocítica no se considerarán ya como entidades separadas, sino como características de las diferentes variantes descritas. La evaluación inmunohistoquímica y la tinción de reticulina son obligatorias para definir las características histopatológicas de este tumor en el estudio diagnóstico y así poder excluir otros diagnósticos diferenciales como son las neoplasias astrocitarias y ependimarias, el tumor teratoide/rabdoide

atípico (AT/RT), el carcinoma de plexos y otros. En muchos estudios, se ha observado que estas variantes tienen un comportamiento clínico diferente. Por ello, las estrategias de tratamiento actuales siguen utilizando la histología como una herramienta necesaria para la estratificación de pacientes.

Existen estudios que han evidenciado que los MB desmoplásicos (tipo nodular/desmoplásico y nodularidad extensa (MBEN)) de los niños tienen mejor supervivencia que el tipo clásico o de célula grande para el mismo grupo de edad<sup>67,75</sup>. Por otro lado, el MB de célula grande y el anaplásico difuso asocian características de mayor agresividad biológica, y por ello su presencia es un indicador de peor pronóstico<sup>81</sup>.

### 7.3- MARCADORES MOLECULARES

Los avances recientes en el conocimiento de la biología del tumor han confirmado que el MB es una enfermedad heterogénea a nivel molecular, y que los marcadores moleculares podrían ayudar en la estratificación del paciente por riesgo biológico, y en un futuro personalizar el tratamiento dirigido a estas dianas tumorales moleculares específicas.

La relación entre la supervivencia y los marcadores moleculares de pronóstico en el MB se viene estudiando desde hace 30 años<sup>99</sup> y aunque van apareciendo nuevos marcadores moleculares, desafortunadamente, solo se utilizan en la clínica, pero sujetos a ensayos clínicos, algunos candidatos como son la activación de la vía WNT (determinado por la acumulación de  $\beta$ -catenina nuclear) y la amplificación de oncogenes *MYC*. Estos marcadores han sido validados en ensayos clínicos en más de dos cohortes, por lo que se han incorporado en los esquemas de estratificación por riesgo del actual estudio PNET 5<sup>15</sup> (Figura 12b).

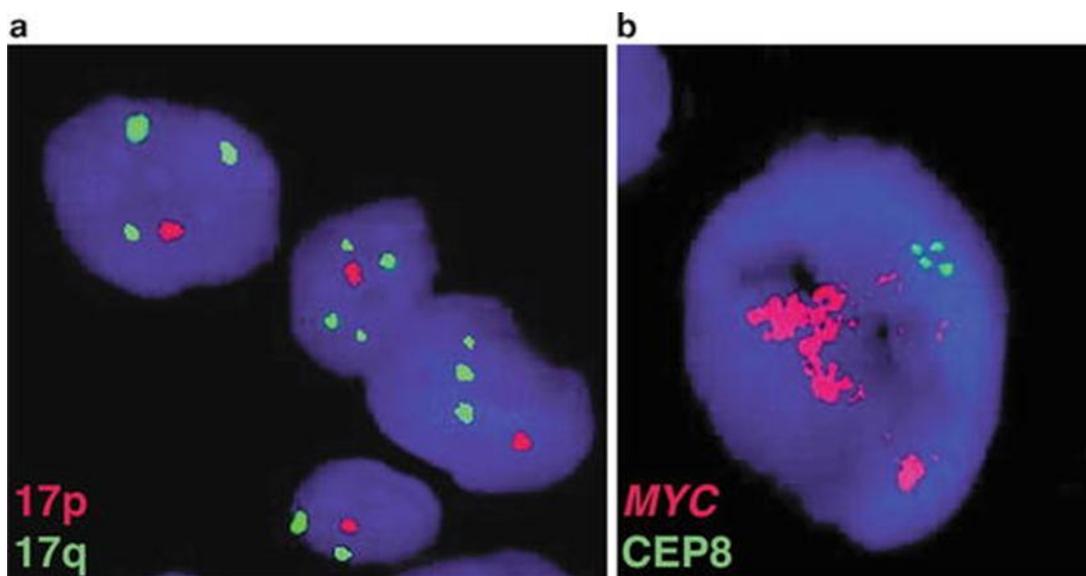
Los pacientes con alteración de la señal WNT/  $\beta$ -catenina pertenecen a otro subgrupo de meduloblastomas relacionado con un aumento en la supervivencia<sup>100-102</sup>. Los casos con activación de la vía WNT/  $\beta$ -catenina también están asociados exclusivamente con la pérdida del cromosoma 6p<sup>101</sup>. Aproximadamente el 25% de todos los pacientes con MB tienen una vía WNT activada, y presentan una mejor supervivencia global en comparación con los que no tienen la vía activada (92% vs 65%)<sup>101,102</sup>.

La amplificación de *MYCC* (6%) y *MYCN* (4%) se ha observado en el 10% de los meduloblastomas y ocurre predominantemente en la variante más agresiva (LCA)<sup>103</sup>. En concreto el mal pronóstico está más asociado al *MYCC*<sup>70,104</sup>, pero también está descrito que su baja expresión, particularmente cuando se combina con un incremento de la expresión del receptor quinasa TrkC, se asocia a un mejor pronóstico<sup>105</sup>. La neurotrofina-3 activa el receptor TrkC y regula la proliferación, la diferenciación y la muerte celular de las células granulares del cerebro en desarrollo. Aunque los estudios son limitados, la expresión elevada de TrkC se considera un predictor independiente de buen pronóstico en meduloblastomas, con una tasa de supervivencia acumulada a 5 años de 85%<sup>106,107</sup>.

Por otro lado, el receptor *ERBB2* es uno de los marcadores de supervivencia mejor estudiado, y está reconocido como marcador de mal pronóstico<sup>108</sup>. Un estudio de Gajjar y colaboradores reveló que un 40% de pacientes con MB presentaba expresión de *ERBB2*, y que pacientes de riesgo estándar con *ERBB2* positivo tenían peor supervivencia libre de progresión tumoral comparada con los que eran negativos a *ERBB2* (tasa de supervivencia a 5 años: 54% vs 100%)<sup>71</sup>.

Durante décadas, se han observado aberraciones citogenéticas recurrentes en pacientes con MB. La más común es la pérdida de material genético del cromosoma 17p, que corresponde a la localización de un gen supresor, distinto a *TP53*, de modo que la desaparición del mismo lleva a la expresión tumoral<sup>109</sup>. Esta delección en ocasiones se asocia a ganancia del 17q, formando un isocromosoma 17q (i[17]q) (Figura 12a). Es un evento que ocurre en más del 50% de los MB<sup>110</sup>. La delección 17p y el isocromosoma 17q son más frecuentes en las variantes anaplásica y clásica que en la desmoplásica.

Otras anomalías cromosómicas encontradas habitualmente, pero con resultados que casi siempre resultan conflictivos, son ganancias en los cromosomas 1q, 3q y 6q, y pérdidas en los cromosomas 6q y 10q (ver Tabla 6 )<sup>111</sup>. Muy pocos de estos marcadores han sido validados en ensayos clínicos prospectivos.



**Figura 12.** Aberraciones citogenéticas comunes del meduloblastoma. **a)** Interfase FISH, mostrando un desequilibrio de número de copias del cromosoma 17, caracterizado por delección del 17p y duplicación del 17q (i[17]q). **b)** Ejemplo de meduloblastoma con un alto nivel de amplificación del protooncogen *MYC* en el cromosoma 8q24 por técnica FISH. Imagen tomada de Jones y cols (2014)<sup>112</sup>.

La identificación de marcadores moleculares adicionales, que puedan ser útiles para determinar el riesgo, se ha convertido en un objetivo importante para realizar una estratificación del tratamiento cada vez más específica. Esto es debido a que en la nueva clasificación molecular de los meduloblastomas, los subgrupos 3 y 4 están menos caracterizados en este sentido. Por ello se necesitan estudios validados con el mayor número posible de muestras.

**Tabla 6.** Marcadores moleculares de pronóstico en el meduloblastoma reportados previamente.Tabla modificada de Shih y cols<sup>48</sup>.

Marcador	Estudios previos	
	Cohorte	Pronóstico
<b>Ganancia 1q</b>	MB <sup>113,114</sup>	Malo
<b>Ganancia Chr2</b>	SHH <sup>115</sup>	Malo
<b>Ganancia 3q</b>	MB <sup>116</sup> , SHH <sup>116</sup>	Malo
<b>Ganancia 6q</b>	MB <sup>103</sup>	Malo
<b>Pérdida Chr6(q)</b>	MB <sup>101-103</sup>	Bueno
<b>Pérdida 10q</b>	MB <sup>116,117</sup> , SHH <sup>115</sup>	Malo
<b>Pérdida 17p</b>	MB <sup>113,116,118,119</sup> , SHH <sup>115,116</sup> , Grupo 4 <sup>116</sup>	Malo
<b>Ganancia 17q</b>	MB <sup>103,116,117</sup> , SHH <sup>115</sup> , Grupo 3 <sup>116</sup> , Grupo 4 <sup>116</sup>	Malo
<b>Iso 17q</b>	Mb <sup>103,117,120,121</sup>	Malo
<b>Amplificación CDK6</b>	MB <sup>116,122</sup>	Malo
<b>Amplificación GLI2</b>	SHH <sup>115</sup>	Malo
<b>Amplificación MYCC</b>	MB <sup>103,104,123-126</sup>	Malo
<b>Amplificación MYCN</b>	MB <sup>103,124</sup> , SHH <sup>116</sup> , Grupo 4 <sup>116,127</sup>	Malo
<b>Amplificación OTX2</b>	MB <sup>127</sup>	Malo

Abreviaturas: Chr, cromosoma; Iso, isocromosoma; MB, meduloblastoma (todos los subgrupos)

#### 7.4- ESTRATIFICACIÓN DE PACIENTES POR GRUPO DE RIESGO

Desde los años 90, la clasificación por riesgo de los MB se ha basado exclusivamente en factores clínicos de la enfermedad, estratificando los pacientes en riesgo estándar/riesgo intermedio y riesgo alto según la edad al diagnóstico, el tumor residual tras la resección y el estatus metastásico<sup>15</sup>.

La estratificación por riesgo que había hasta hace poco estaba avalada por el *Children's Oncology Group* americano (COG) y el comité europeo de tumores cerebrales de la Sociedad Internacional de Oncología Pediátrica (SIOP), y recogían los siguientes 3 grupos de riesgo:

- Riesgo estándar/riesgo intermedio: pacientes  $\geq 3$ -5 años, sin evidencia de enfermedad metastásica (M0) y con resección total o casi total (resto tumoral  $< 1.5 \text{ cm}^2$  después de la cirugía).

- Riesgo alto: Pacientes  $\geq 3$ -5 años con enfermedad metastásica (M1-M4) y/o resto tumoral posquirúrgico  $\geq 1.5 \text{ cm}^2$ .

- Los niños  $< 3$ -5 años: estos pacientes solo por edad tienen peor pronóstico que los niños más mayores, independientemente de los otros factores. Por esta razón, se consideran un grupo con su propia categoría de riesgo, con diferentes estrategias en el manejo de la enfermedad<sup>15</sup>. Debido a los efectos adversos neurológicos tan severos que implica la RT en el desarrollo neurológico y madurativo del niño, el objetivo en este grupo es evitar la RT craneoespinal, pero se duda que esta decisión pueda contribuir a empeorar el pronóstico<sup>15</sup>.

Aunque este tipo de estadiaje ha influenciado los protocolos de tratamiento y ha contribuido a mejorar los índices de supervivencia en MB, se ha observado que pacientes del mismo grupo con tratamientos idénticos pueden tener diferentes desenlaces debido a las diferencias biológicas de sus tumores<sup>71</sup>. La agresividad de las terapias empleadas está asociada a unos efectos secundarios importantes, sobre todo la radioterapia (RT). Por ello, las investigaciones biológicas pretenden identificar marcadores moleculares que faciliten una estratificación más precisa, individualizando mejor los pacientes de alto riesgo de los de bajo riesgo para evitar toxicidades.

## 8. TRATAMIENTO

El plan de tratamiento actual del MB se basa, principalmente, en cirugía, seguida de RT craneoespinal (cerebro y médula) y/o quimioterapia (QT). Desde los años 80 los resultados de los sucesivos protocolos internacionales aleatorizados llevados a cabo por los grupos SIOP europeo, el COG americano, el francés SFOP y los ingleses UKCCSG y CCSG han ayudado a optimizar el tratamiento adyuvante, modificando los esquemas de fraccionamiento de la RT, reduciendo dosis total de radiación en los pacientes de menor edad y/o introduciendo QT, con el fin de incrementar la supervivencia y reducir la toxicidad (ver Tabla 8)<sup>1</sup>.

**Tabla 7.** Factores pronóstico aceptados actualmente en MB, validados en más de 2 ensayos clínicos. Marcadores de riesgo favorable y riesgo adverso, incluidas referencias de aval. Tabla adaptada de Pizer y Clifford, 2009<sup>15</sup>.

Categoría	Factor pronóstico	Referencia
<b>Riesgo favorable</b>		
Histología	Desmoplasia en pacientes < 3 años	McManamy et al., 2007; Rutkowski et al., 2005
Biología	Activación vía WNT (acumulación nuclear de $\beta$ -catenina)	Clifford et al., 2006; Ellison et al. 2005
<b>Riesgo desfavorable</b>		
Clínico/Radiológico	Edad < 3 años	Rutkowski et al., 2005; Zeltzer et al., 1999
	Enfermedad metastásica	Zeltzer et al., 1999; Bailey et al., 1995
	Resto tumoral posquirúrgico $\geq 1.5$ cm <sup>2</sup>	Pomeroy et al., 2002; Zeltzer et al., 1999
Histología	Meduloblastoma de célula grande y anaplásico	Eberhart and Burger, 2003; McManamy et al., 2003; Ellison, 2002
Biología	Amplificación de genes <i>MYC</i>	Lamont et al., 2004; Eberhart and Burger, 2003

### **Cirugía**

El abordaje quirúrgico es el primer paso en la estrategia terapéutica del MB, permite confirmar el diagnóstico y resuelve la hipertensión intracraneal producida por la acumulación de líquido cefalorraquídeo debido a la obstrucción por el tumor<sup>128-130</sup>. Extirpar la mayor cantidad de tumor sin perjudicar el tejido sano adyacente es fundamental en el tratamiento, sin descuidar que la estrecha relación del MB con el cuarto ventrículo y algunas veces con el tronco cerebral es un riesgo añadido de morbilidad.

Los avances tecnológicos en cirugía y anestesia, y la RMI combinada con instrumentos de navegación posibilitan al neurocirujano crear un mapa de la ubicación exacta del tumor y permite que la mayoría de los pacientes sean susceptibles de una resección total o casi total del tumor si no existe infiltración en el cerebelo y en el tronco<sup>19,29,131-133</sup>. A veces las complicaciones post-operatorias y los déficits neurológicos resultantes de la cirugía no solo influyen en la calidad de vida, también pueden suponer un retraso en el comienzo de la terapia adyuvante.

**Tabla 8.** Resumen de ensayos que han estudiado tratamientos combinados con QT y RT. Tabla adaptada de Fossati y cols (2009)<sup>1</sup>

Referencia	Protocolo	Nº Pacientes	Tipo de estudio	Tratamiento aplicado	Supervivencia	Comentarios
Deutsch et al	POG 8631/CCG 923	126	Randomizado	CSI dosis reducida (23.4 Gy/13 fracciones) vs. CSI dosis total (36 Gy/20 fracciones). Ambas ramas con boost en fosa posterior 54 Gy. No se administra QT	SLE a 5 años mas alta en la rama de dosis entera (57% vs. 42%). No diferencias a 8 años	Finalizado prematuramente por incremento de recaídas en espina en la rama de dosis baja
Bouffet et al	SFOP M4	16	No randomizado	QT (8 drogas en 1 día y altas dosis de MTX) seguido de RT en fosa posterior y neurojeje	SG a 6 años 18%	No se puede evitar la radiación supratentorial
Tait et al	SIOP 1	286	Randomizado	RT solo vs. RT+QT (vincristina concomitante y mantenimiento con CCNU y VCR)	No hay diferencias significativas en la supervivencia libre de enfermedad	La aplicación de QT fue beneficioso en los subgrupos con tronco encefálico comprometido o enfermedad T3-T4. La introducción de la QT mejora los resultados
Taylor et al	SIOP/UKCCSG PNET 3	179	Randomizado	RT solo vs. QT (4 ciclos alternantes de VCR, etoposido, carboplatino y VCR, etoposido y ciclofosfamida) seguido de RT	SLE a 5 años mas alta en la rama de QT (74.2% vs. 59.8%)	

**SLE:** supervivencia libre de eventos, **SG:** supervivencia global, **CSI:** radiación craneoespinal, **RT:** radioterapia, **QT:** quimioterapia, **VCR:** vincristina

### **Radioterapia (RT)**

Posterior a la cirugía, la RT ha sido reconocida como la piedra angular del tratamiento adyuvante en el MB pediátrico, ya que este tipo tumoral es muy radiosensible<sup>129,134</sup>. En pacientes con MB la RT es deseable que se administre en un intervalo de 42 días tras la cirugía y así evitar un impacto negativo en la SG y supervivencia libre de enfermedad (SLE)<sup>27</sup>.

Se administra RT craneoespinal, ya que el MB tiene una tendencia alta a la diseminación por el neuroeje, y además, una sobreimpresión/boost en la fosa posterior<sup>135</sup>. El tratamiento convencional administra dosis de radiación craneoespinal de 35-36 Gy seguida de un boost de 18-20 Gy en fosa posterior (dosis total 54-56 Gy)<sup>27,136</sup>. Usando este tratamiento, hay estudios que muestran que entre el 55% y el 70% de los pacientes de riesgo estándar están vivos y libres de enfermedad progresiva a 5 años del diagnóstico, pero asocian una morbilidad no deseable<sup>27,34,136-138</sup>. Las complicaciones neurológicas y neuroendocrinas severas observadas a largo plazo han obligado a estudiar durante años como reducir las dosis de RT y su campo de aplicación, aunque con un éxito limitado<sup>129,136,139,140</sup>.

En niños mayores de 3 años al diagnóstico se ha reducido la dosis de radiación craneoespinal a una dosis total de 23,4 Gy en 40 días junto con un boost localizado en fosa posterior hasta un total de dosis de 54-55,8 Gy al combinar tratamiento adyuvante de QT. La supervivencia libre de eventos a 5 años de este régimen alcanza el 80%<sup>28,141</sup>.

Teniendo en cuenta que es imposible prescindir de la RT en un futuro cercano, muchos investigadores han estudiado otras formas menos tóxicas de aplicarla. Una de las primeras opciones ha sido la introducción de la RT conformacional, que ha permitido a los oncólogos radioterápicos reducir el campo de radiación<sup>142</sup>, ya que en estos casos el haz de radiación se configura para ajustarse al perfil de la base del tumor primario con un margen adicional definido, lo que reduce la toxicidad para los tejidos normales circundantes<sup>143</sup>. Por otro lado, está la alternativa de régimen de hiperfraccionamiento (HFRT), donde la dosis total se divide en dosis menores que se administran más de una vez al día, suponiendo así que esta reducción de la dosis por fracción puede disminuir el riesgo de toxicidad tardía, aunque la dosis total se vea incrementada. Pero el papel de la RT hiperfraccionada como tratamiento en el MB está muy debatido hoy día. De hecho, los datos disponibles del estudio prospectivo europeo HIT-SIOP PNET 4 no proporcionan

ninguna ventaja en la SG ni SLE en la rama hiperfraccionada, con el agravante de necesitar soporte anestésico dos veces al día<sup>144</sup>. Aunque un estudio francés con menos pacientes con MB de riesgo estándar tratados con HFRT y sin QT adyuvante, observó una supervivencia libre de progresión a 3 años del 83% y con un estado neurocognitivo bueno<sup>145</sup>.

El control de calidad en la RT es importante, sobre todo al reducir dosis, para evitar recaídas<sup>136,138</sup>.

La terapia de protones permite administrar dosis más altas de radiación al tumor y al no radiar tejidos adyacentes produce menos efectos secundarios. Se alcanza una supervivencia similar a la RT convencional<sup>146-148</sup>. Sin embargo, al ser una terapia tan especializada y que requiere de un equipamiento caro, solo está disponible en unos pocos centros. En cualquier caso, hacen falta más estudios prospectivos, con análisis de calidad de vida y un seguimiento a largo plazo para confirmar una superioridad clínica de la protonterapia.

### **Quimioterapia (QT)**

El uso de la QT en el tratamiento del MB se ha convertido en estándar en niños de todos los grupos de riesgo, con el objetivo de retrasar o evitar la RT<sup>30,87,149</sup>. La QT se usa como adyuvante a la RT, en ocasiones neoadyuvante como citorreductor del tumor para disminuir la dosis de la RT o posteriormente a la RT (4-6 semanas tras ésta)<sup>26,27,150</sup>. La elección del momento de la QT respecto a la RT todavía es controvertida. En estudios americanos la mayoría emplean QT concomitante o post-RT, y en Europa, aunque se utilizó también la QT antes de la RT solo mejoró la supervivencia en los casos diseminados (SIOP I). En los menores de 3 años se ha podido evitar radiar algunos pacientes solo con QT tras la cirugía, bien en ciclos sucesivos o en altas dosis y rescate<sup>75,151</sup>.

Las principales drogas utilizadas en la QT son inhibidores mitóticos y agentes alquilantes, pero todavía no se han identificado cuáles y a qué dosis son las más óptimas (vincristina (VCR), cisplatino, lomustina (CCNU), ciclofosfamida, temozolamida y etopósido oral, combinado o no)<sup>28,141,152</sup>

Por otro lado, las altas dosis de QT junto con rescate autólogo con células madre hematopoyéticas se ha utilizado con resultados excelentes en pacientes con MB

recurrente o con mal pronóstico y en menores de 3 años<sup>30,153-155</sup>. El régimen de alta dosis de QT principalmente consiste en mieloablación basada en alquilantes, incluyendo tiotepa (TT) con o sin inhibidores de topoisomerasa, aunque se hayan utilizado otros agentes.

## 8.1- PROTOCOLOS DE TRATAMIENTO

En todos los estudios realizados sobre el tratamiento del MB, siempre se ha intentado estratificar a los pacientes en diferentes grupos de riesgo en base a los factores pronósticos clínicos y así, administrar el tratamiento. Con posterioridad se han ido añadiendo los factores de riesgo biológico obtenidos en los resultados de los sucesivos ensayos clínicos, como se observa en la Figura 13.

### *8.1.1- Tratamientos para pacientes de riesgo estándar*

Los pacientes >3-5 años de riesgo estándar son tratados con protocolos diseñados con el principal objetivo de reducir lo más posible secuelas neurocognitivas y neuroendocrinas, sin que se disminuya la supervivencia<sup>141</sup>. Al reducir post-cirugía la RT craneoespinal a 23.4 Gy, junto con boost en la fosa posterior hasta 54-56 Gy, más VCR concomitante, seguido de 8 ciclos de QT adyuvante con lomustina, cisplatino y VCR<sup>15,141</sup>, se alcanzan porcentajes de SLE a 5 años del 79%-81%<sup>26,141</sup>. Este protocolo demostró toxicidades que impidieron completar los ciclos de QT adyuvante. En estrategias actuales se alternan los ciclos de lomustina, cisplatino y VCR, con ciclos de ciclofosfamida y VCR. En el ensayo aleatorizado SIOP-PNET 4, una de las ramas utilizaba el esquema previo de Packer<sup>26</sup> con RT convencional reducida, pero con VCR semanal concomitante durante la RT, y en la otra rama RT hiperfraccionada. En ambas ramas la QT adyuvante era igual. Los resultados de este estudio aportaron que no había diferencias significativas en la supervivencia global de ambas ramas, con un 87% para la rama de RT estándar y un 85% para la RT hiperfraccionada<sup>144</sup>. Asimismo al añadir VCR concomitante con RT aumentaba la toxicidad<sup>144</sup>. Con los resultados obtenidos de las muestras biológicas incluidas en el PNET 4 se introdujeron los criterios moleculares para los ensayos clínicos actuales en SIOP Europa, igual que se establecieron en estudios americanos, pudiéndose llegar a un consenso en 2014<sup>156</sup>.

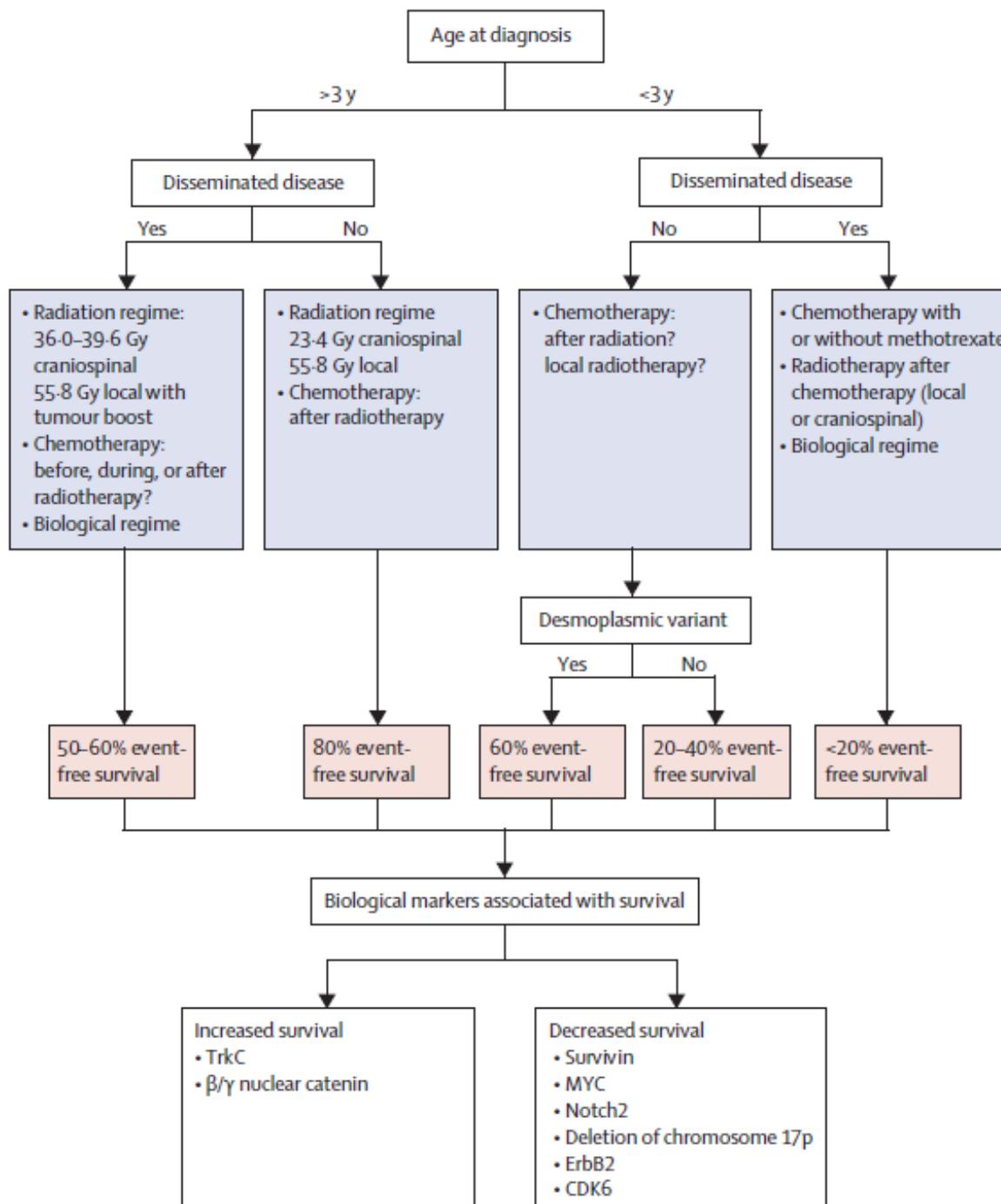


Figura 13. Esquema de tratamiento del meduloblastoma. Imagen tomada de Crawford JR y cols. (2007)<sup>18</sup>.

### 8.1.2- Tratamientos para pacientes de alto riesgo

Los pacientes de alto riesgo, excluyendo los menores de 3 años de edad, se definen por la positividad de enfermedad metastásica (M1/M2/M3/M4) observado en el 30% de los pacientes) y/o enfermedad residual post-cirugía. El tratamiento estándar para estos pacientes incluye RT craneoespinal inicial a dosis total de 35-36 Gy, con sobreimpresión a fosa posterior de 18-20 Gy<sup>15,34</sup>. Cuando existen implantes tumorales además del resto post-quirúrgico, pueden administrarse iguales dosis que en el boost. En estos casos los esquemas de QT dependen de protocolos utilizados en los diferentes países, y pueden ser ciclos convencionales, aunque cada vez más se utilizan las altas dosis de QT con rescate de trasplante de progenitores hematopoyéticos<sup>15,28,157,158</sup>. Cada vez está más extendido el abordaje quirúrgico de segunda intención en los casos de resto tumoral, permitiendo que estos pacientes puedan ser considerados para su inclusión en protocolos de tratamiento de riesgo estándar<sup>15</sup>.

Con los tratamientos actuales, la supervivencia para los pacientes de alto riesgo tiene un rango amplio (30-70%), aunque la mayoría coincide en porcentajes bajos, no superiores al 40%<sup>15,28-30,32,34,35,89,159</sup>.

### 8.1.3- Tratamientos para pacientes menores de 3-5 años

En el pasado, la supervivencia de estos pacientes con MB era menor respecto a niños de más edad. Las posibles razones podrían ser el retraso en el diagnóstico, el riesgo en la cirugía, el aumento de la toxicidad tras la RT, tratamiento insuficiente, y tumores biológicamente más agresivos. A mediados de los 80, se introdujo la edad de 3 años como límite en muchas estrategias con el intento de retrasar u omitir la radiación y mejorar los efectos secundarios se diseñaron protocolos basados en ciclos sucesivos de QT que asociaban además tratamiento intraventricular<sup>15,75,149,160</sup>.

El POG1 (*Pediatric Oncology Baby protocol*) fue el primer estudio cooperativo amplio que se realizó con el objetivo de retrasar la radiación usando QT convencional, y fue seguido por numerosos grupos americano (CCSG) y europeos (SFOP, Asociación Italiana de Oncología Pediátrica (AIEOP) y Sociedad Alemana de Oncología y Hematología Pediátrica (GPOH))<sup>76,161</sup>. Todos los estudios iniciales mostraron que en algunos pacientes con M0/R0 se lograba controlar la enfermedad solo con QT convencional, y que en los casos con metástasis y/o resto tumoral la enfermedad no se podía controlar<sup>75,149</sup>. Por

ese motivo se utilizaron altas dosis de QT con rescate de trasplante de progenitores, que se mantiene en los protocolos actuales de tratamiento, al observar una mejoría en la supervivencia global y libre de eventos<sup>162,163</sup>. Además, como alternativa a la radiación de todo el eje craneoespinal, se utiliza la radiación focal del tumor<sup>164</sup> y está en estudio reducir la dosis total a 18 Gy y disminuir el volumen del boost en fosa posterior en los niños pequeños<sup>77,132</sup>.

En estudios alemanes, la supervivencia libre de enfermedad en menores con resección completa tumoral y sin metástasis sólidas alcanza el 82%, y para los metastásicos o enfermedad residual, es del 33% y el 50% con seguimiento a 5 años. En este mismo grupo, los tumores de tipo desmoplásico alcanzan el 85% de supervivencia libre de enfermedad con este tratamiento<sup>75</sup>.

### *8.1.4- Tratamientos para pacientes con recaída*

Los pacientes diagnosticados de un MB que sufren una recaída tras haber sido sometidos a tratamiento todavía tienen menos posibilidades de curarse. La mayoría de las recaídas ocurren dentro de los dos primeros años del diagnóstico y son leptomenígeas<sup>15,26</sup>. Las opciones de tratamiento en estos casos dependen del tratamiento que haya recibido anteriormente, si la recaída es con metástasis o no, y de las condiciones del paciente. Repetir cirugía sería la primera opción de tratamiento, la RT focal sobre la recaída en casos que ya hubieran recibido radiación craneoespinal y por último, una segunda línea de QT. Por otro lado, se ha evidenciado que la QT a dosis altas con trasplante de células madre consigue algunas remisiones en casos de recaída sin metástasis.

Para los casos sin RT previa las supervivencias pueden llegar al 20-30%<sup>165</sup>, aunque no superan el 2% en casos radiados<sup>15</sup>. Se utiliza el tratamiento metronómico paliativo en estos pacientes que no han respondido a la terapia convencional previa o incluso a tratamientos de segunda y tercera línea por su carácter antiangiogénico y porque permite la administración mayoritariamente oral<sup>166-169</sup>. Pero no hay estudios aleatorizados ni numéricamente importantes que demuestren su impacto en la supervivencia. Recientemente un estudio aleatorizado concluye, que el tratamiento metronómico no mejora la supervivencia libre de tumor a 6 meses en el cáncer infantil

comparada con el placebo, aunque los pacientes puedan tolerar los ciclos de tratamiento<sup>170</sup>.

## 8.2- EFECTOS ADVERSOS ASOCIADOS AL TRATAMIENTO

La mejoría descrita en la supervivencia de los pacientes pediátricos diagnosticados de MB se acompaña generalmente de un porcentaje cada vez mayor de problemas derivados del tratamiento. Estos pacientes sufren efectos secundarios a largo plazo en forma de alteraciones neuropsicológicas, defectos neuroendocrinos, pérdida de audición y aparición de segundos tumores.

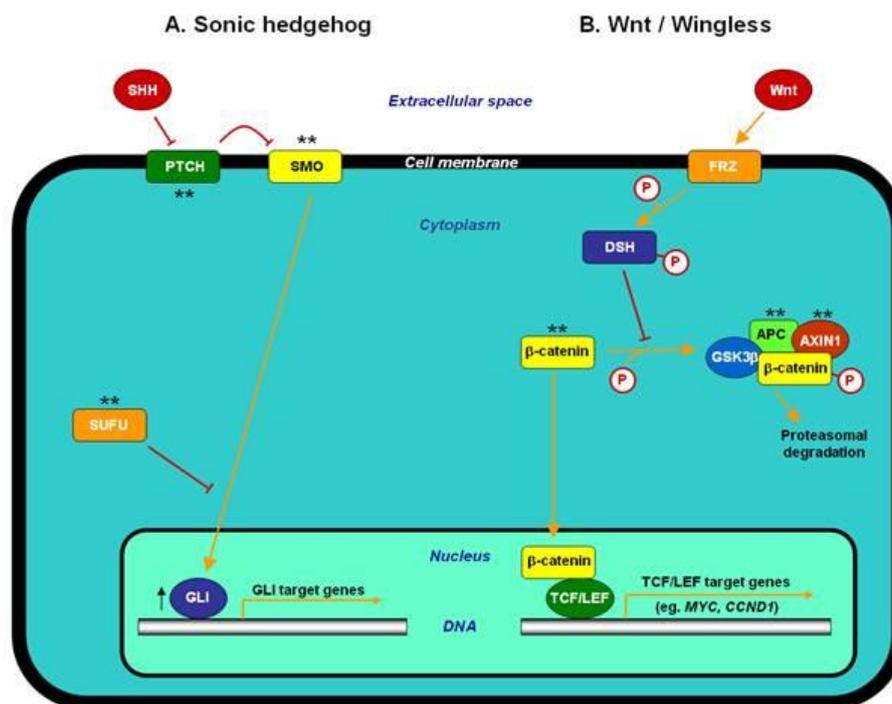
Las alteraciones cognitivas se observan en un 40%-100% de los pacientes que sobreviven a un tumor cerebral. Este daño suele ser debido al desarrollo del tumor, a la cirugía realizada y sus complicaciones, y a la RT y QT administrada. Además, se ha descrito que la gravedad de la alteración intelectual está inversamente relacionada con la edad del paciente<sup>1</sup>.

En general, estos pacientes tienen un resultado neurocognitivo y psicosocial pobre, presentando dificultades sociales y educativas de por vida<sup>15</sup>.

## 9. AVANCES EN LA BIOLOGIA DEL MEDULOBLASTOMA

El uso de nuevas tecnologías de alta resolución en el marco de la genómica del MB, como las plataformas de microarrays de expresión, microarrays de metilación y últimamente la *Next-Generation Sequencing* (NGS), han permitido importantes avances en el conocimiento de la heterogeneidad molecular que subyace en este tipo de tumor, facilitando reconocer distintos subgrupos moleculares, con comportamientos muy diferentes que requieren diagnósticos precisos y diferentes enfoques terapéuticos<sup>171-174</sup>.

Los hallazgos más significativos en las vías de señalización involucradas en la patogénesis del MB se han conseguido tras la investigación de síndromes familiares que predisponen al desarrollo del mismo. Como ya se ha comentado, muchos de los defectos genéticos que causan estos síndromes desempeñan un papel más amplio en la aparición del MB esporádico por su implicación directa en las vías de señalización celular *Wingless* (WNT) y *Sonic Hedgehog* (SHH), que son esenciales en el desarrollo neuronal y cerebelar normales, y se activan anormalmente en algunos subtipos de MB<sup>44, 39,45,46,55,175,176</sup>.



**Figura 14.** Vías de señalización *Sonic Hedgehog* (A) y *Wnt/Wingless* (B) en meduloblastoma. Flecha amarilla=efecto estimulador, flecha roja=efecto inhibitor, P=fosforilación. Las mutaciones de la vía indicadas con \*\* son las reportadas en MB, y están asociadas con la activación anormal de la vía. Imagen modificada de Pizer y Clifford (2009)<sup>15</sup>.

### 9.1- RUTA DE SEÑALIZACION WNT

La vía de señalización WNT es un regulador crítico en células madre y es esencial para el buen desarrollo embrionario. Controla estrechamente la comunicación entre células en múltiples eventos del desarrollo y está implicada en muchas enfermedades, particularmente en cáncer<sup>177</sup>. La cascada de WNT regula la proliferación celular, la especificación del destino celular, y la diferenciación celular mediada por β-catenina, por ello, a menudo se le llama vía dependiente de β-catenina o vía canónica WNT<sup>177</sup>. Esta vía regula la localización intracelular de la β-catenina, que es un activador transcripcional clave (Figura 14B). La estimulación de la señal WNT permite la translocación de β-catenina al núcleo, transactiva los complejos transcripcionales TCF/LEF, y activa los genes diana pro-tumorigénicos localizados aguas abajo, incluyendo la ciclina D1 y el oncogén *MYC*<sup>178</sup>.

Por lo tanto, la estabilización de la proteína  $\beta$ -catenina nuclear es indicativo de la activación de la vía WNT.

La activación anómala de WNT afecta al 18-30% de todos los casos de MB<sup>102,179</sup>. Estos pacientes van a presentar perfiles de expresión génica y patrones de aberraciones genéticas específicas<sup>171</sup>. A nivel mutacional, aproximadamente el 10% de los casos de MB contienen mutaciones oncogénicas en el gen *CTNNB1* que codifica para  $\beta$ -catenina. Las mutaciones de otros componentes de la vía (*APC*, *AXIN1* y *AXIN2*) afectan cada uno a un 2,5% de los casos. No se han detectado mutaciones en *GSK3- $\beta$* <sup>176,179,180</sup>.

Hay una relación directa entre las mutaciones observadas en *CTNNB1* y la acumulación de  $\beta$ -catenina nuclear observada por inmunohistoquímica en las muestras, detectando mutaciones en el 60-70% de los casos  $\beta$ -catenina nucleopositivos<sup>100,101,179</sup>.

## 9.2- RUTA DE SEÑALIZACIÓN SHH

La ruta SHH es clave en el desarrollo cerebeloso normal, donde el ligando SHH es secretado por las neuronas de Purkinje y promueve la mitogénesis en células progenitoras de la capa granular externa durante el desarrollo temprano<sup>178</sup>. La respuesta a la señal SHH es controlada por dos proteínas transmembrana, PTCH y su proteína asociada SMO (*Smoothed*) (Figura 14A). En ausencia del ligando SHH, PTCH y SMO forman un complejo inactivo mediante el cual PTCH suprime la actividad de SMO, que es la molécula que tiene actividad en la señalización intracelular. Tras la estimulación de SHH, se elimina esta inhibición y SMO envía una señal al núcleo de la célula que conduce a la activación/represión de ciertos genes. El factor de transcripción GLI, activado por esta vía de señalización, promueve la proliferación celular. En condiciones normales este factor se encuentra secuestrado en un complejo citoplasmático formado por proteínas asociadas al citoesqueleto, como SUFU. Cuando la vía se activa, GLI se libera del complejo y en el núcleo regula la transcripción de sus genes diana.

La activación aberrante de la vía SHH se produce por mutaciones que afectan a múltiples componentes de la vía. Además de las mutaciones en *PTCH1* (hasta el 30% de los casos), se han descrito mutaciones que activan *SMO* en el 5% de los casos. También se han descrito mutaciones en *SUFU*, que es otro regulador negativo de la vía SHH,

aunque su incidencia y su implicación es más baja (0-10% de los casos)<sup>45,46,181,182</sup>. Estas mutaciones resultan en una activación constitutiva inapropiada de la vía SHH, y en efectos mitogénicos aguas abajo, probablemente mediados por la sobreexpresión de proteínas GLI y mediadores de respuesta aguas abajo (por ejemplo *MYCN* y ciclina D1)<sup>178</sup>. Por esa razón, una sobreexpresión celular de GLI1 y GLI2 resulta ser un marcador de la activación de SHH en MB.

### 9.3- CLASIFICACIÓN MOLECULAR DEL MEDULOBLASTOMA BASADA EN PERFILES DE EXPRESIÓN GENÉTICA

Los nuevos hallazgos en la biología molecular del MB han cambiado el escenario de clasificación y tratamiento del tumor, ya que estudios de perfil transcripcional realizados en cohortes de MB sugieren la existencia de diferentes subtipos moleculares. En la conferencia de Boston del 2010, los expertos establecieron por consenso cuatro subgrupos moleculares (WNT, SHH, Grupo 3 y Grupo 4) y reconocieron el potencial de múltiples subtipos dentro de cada subgrupo<sup>80,116,174,183</sup>. Se nombraron los grupos WNT y SHH, porque se creyó que estas rutas de señalización están especialmente implicadas en la patogénesis del MB. En los casos del Grupo 3 (tiende a albergar amplificación *MYC*) y del Grupo 4 (tiende a tener isocromosoma 17q) se sabe menos de su patogénesis, y se eligieron nombres más genéricos. En un posterior encuentro en 2013 en Perth, Australia, se consensuaron los criterios de diagnóstico para cada uno de los cuatro grupos<sup>156</sup>. En la actual clasificación de la WHO del 2016, los MB con WNT activado y los MB con SHH activado se clasifican por separado de los tumores sin WNT y sin SHH activado, que comprenden los tumores del Grupo 3 y los tumores del Grupo 4, que son variantes provisionales, porque no están tan bien definidas molecularmente con las técnicas clínicas de laboratorio de hoy en día. Además, se reconoce que dentro del grupo SHH hay otras dos entidades más, el SHH-*TP53 wildtype* y el SHH-*TP53* mutado, debido a que tienen resultados clínicos muy divergentes.

	WNT (~10%)	SHH (~30%)	Group 3 (~25%)	Group 4 (~35%)
<b>Clinical features</b>				
Gender ratio (M/F)	~1/1	~1.5/1	~2/1	~3/1
Age distribution				
Histology	Classic; very rare LCA	Classic > desmoplastic/nodular > LCA > MBEN	Classic > LCA	Classic; rarely LCA
Metastasis at diagnosis	~5–10%	~15–20%	~40–45%	~35–40%
Overall survival (5 years)	~95%	~75%	~50%	~75%
Proposed cell of origin	Lower rhombic lip progenitor cells	CGNPs of the EGL and cochlear nucleus; neural stem cells of the SVZ	Prominin 1 <sup>+</sup> , lineage <sup>-</sup> neural stem cells; CGNPs of the EGL	Unknown
<b>Genomic features</b>				
Cytogenetics				
Driver genes <sup>‡</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CTNNB1 (90.6%)</li> <li>• DDX3X (50%)</li> <li>• SMARCA4 (26.3%)</li> <li>• MLL2 (12.5%)</li> <li>• TP53 (12.5%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PTCH1 (28%)</li> <li>• TP53 (13.6%)</li> <li>• MLL2 (12.9%)</li> <li>• DDX3X (11.7%)</li> <li>• MYCN (8.2%)</li> <li>• BCOR (8%)</li> <li>• LDB1 (6.9%)</li> <li>• TCF4 (5.5%)</li> <li>• GLI2 (5.2%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MYC (16.7%)</li> <li>• PVT1 (11.9%)</li> <li>• SMARCA4 (10.5%)</li> <li>• OTX2 (7.7%)</li> <li>• CTDNEP1 (4.6%)</li> <li>• LRP1B (4.6%)</li> <li>• MLL2 (4%)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• KDM6A (13%)</li> <li>• SNCAIP (10.4%)</li> <li>• MYCN (6.3%)</li> <li>• MLL3 (5.3%)</li> <li>• CDK6 (4.7%)</li> <li>• ZMYM3 (3.7%)</li> </ul>
Expression signature	WNT signalling	SHH signalling	<ul style="list-style-type: none"> <li>• MYC signature</li> <li>• Retinal signature</li> </ul>	Neuronal signature

**Figura 15.** Factores clínicos y genéticos de los subgrupos de MB. Imagen tomada de Northcott y cols (2012)<sup>183</sup>. *BCOR*, *BCL6* co-repressor; *CDK6*, cyclic-dependent kinase 6; *CGNps*, cerebellar granule neuron precursors; *CTDNEP1*, CTD nuclear envelope phosphatase 1; *CTNNB1*,  $\beta$ -catenin; *EGL*, external granule cell layer; *GLI2*, *GLI* family zinc finger 2; *KDM6A*, lysine-specific demethylase 6A; *LCA*, large cell and anaplastic; *LDB1*, LIM domain binding 1; *LRP1B*, low density lipoprotein receptor-related protein 1B; *MBEN*, medulloblastoma with extensive nodularity; *MLL*, mixed lineage leukaemia; *OTX2*, orthodenticle homeobox 2; *PTCH1*, patched 1; *SCNA*, somatic copy number aberration; *SHH*, sonic hedgehog; *SNCAIP*,  $\alpha$ -synuclein inteinteracting protein; *SPTB*, spectrin- $\beta$  erythrocytic; *SVZ*, sinventricular zone; *TCF4*, transcription factor 4; *TNXXB*, tenascin XB.

\*La frecuencia, la demografía, los factores clínicos y los perfiles citogenéticos del subgrupo derivaron de una cohorte de 827 meduloblastomas distribuidos en subgrupos descritos por Northcott y cols<sup>184</sup>.

‡Los genes conductores están determinados por la frecuencia relativa de las mutaciones o SNCs (*single-nucleotide changes*) que afectan a los genes en cada subgrupo, como ha sido descrito en recientes estudios de secuenciación y *copy number* en meduloblastomas.

### 9.3.1- Subgrupo WNT

Este subgrupo se caracteriza por la activación de la vía WNT, que se puede demostrar por la acumulación de inmunoreactividad de  $\beta$ -catenina en el núcleo de la célula tumoral.

Los tumores WNT suponen el 10-15% de todos los MB, y aunque se piensa que son el subgrupo más raro, es el más estudiado y el que mejor pronóstico tiene a largo plazo, con una supervivencia global de los pacientes que alcanza el 90%<sup>102,116,185</sup>. Casi todos los tumores WNT son de tipo clásico, habiéndose descrito algún caso con histología LCA, y

rara vez metastatizan<sup>80,183</sup>. Este subgrupo presenta siempre un ratio hombre:mujer de 1:1, aunque con un ligero predominio femenino<sup>80</sup>. Se diagnostica en niños de todas las edades, pero se ve raramente en niños muy pequeños. Cuando los pacientes son menores de 16 años tienen un pronóstico excelente si son tratados con tratamiento estándar. Por el contrario, en adultos con tumores WNT, este efecto benefactor pronóstico no se mantiene, como se ha comprobado en algunos estudios<sup>186,187</sup>.

Una evaluación óptima de este subgrupo combina además de la inmunohistoquímica, el estudio de mutaciones del gen *CTNNB1* y la monosomía del cromosoma 6, ya que más del 85% de los tumores con la vía WNT activada muestran una o las dos alteraciones<sup>3,101,102,116,183</sup>. En el diagnóstico también se puede utilizar métodos de metilación de ADN y análisis de expresión génica<sup>188</sup>. Cabe destacar que este tipo tumoral tiene un perfil de metilación completamente diferente al resto de subgrupos, ya que según sugieren estudios recientes con modelos de ratón con tumores WNT, su origen está en células progenitoras del labio rómbico inferior del cerebelo, ocupando el IV ventrículo e infiltrándose en la parte dorsal del tronco<sup>189</sup>.

### 9.3.2- Subgrupo SHH

Los MB del subgrupo SHH constituyen alrededor del 30% de todos los diagnosticados<sup>116,183</sup>. Los pacientes con este tipo de tumor alcanzan tasas de supervivencia a 5 años de aproximadamente el 75% con los tratamientos estándar actuales<sup>80,190</sup>.

Principalmente los casos con SHH activado predominan en niños muy pequeños ( $\leq 3$  años) y en mayores de 16 años o más, llegando al 70% entre las dos franjas de edad. La distribución del sexo es similar a la observada para los MB en general, con un ratio de hombre:mujer de 1.5:1. Los tipos histológicos desmoplásico y MBEN son predominantes en este grupo, pero también se encuentran pacientes con tipo clásico o tipo célula grande/anaplásico (LCA). Este subgrupo de MB es poco propenso a metastatizar (M+). Respecto a la supervivencia, los casos SHH parece que representan un pronóstico intermedio, aunque dependiendo del genotipo subyacente, puede haber algún grupo de pacientes específico con mejor resultado.

El gen *PTCH1* es el prototipo de gen supresor de tumores en este grupo, junto con el gen *SUFU*. De hecho, las mutaciones en estos dos genes están restringidas a este

subgrupo de MB. Asimismo, se ha observado que los tumores SHH con mutaciones en el gen *TP53* tienen una supervivencia mucho peor que los que son *TP53* no mutado<sup>52,191</sup>.

La pérdida de heterocigosidad (LOH) en los cromosomas 9q y 10q también es una característica de los meduloblastomas SHH. Se han propuesto con poco éxito estudios comparativos basados en inmunohistoquímica con SFRP1, GLI1 y GAB1 para la identificación de estos MB, ya que todos ellos tienen una aparente especificidad por este subgrupo<sup>185,190,192</sup>. En los ensayos clínicos actuales se utilizan terapias dirigidas a esta vía, con fármacos inhibidores como Vismodegib e Itraconazole<sup>193,194</sup>.

### 9.3.3- Subgrupo 3

Los meduloblastomas denominados genéticamente Grupo 3 corresponden al 25% de todos los casos, y se asocian prácticamente a pacientes pediátricos, con casos muy aislados en adultos<sup>187</sup>. Hay un sesgo de género masculino en este grupo, observándose un ratio entre hombres y mujeres de 2:1. Los tipos histológicos clásico y LCA son habituales. La enfermedad metastásica es muy común en este grupo, y se ha descrito en más de la mitad de los casos. Estos pacientes tienen un pronóstico verdaderamente malo con una supervivencia a 5 años del diagnóstico menor del 60%<sup>116,173,174</sup>.

Es muy característico de este subgrupo la amplificación de *MYCC*, encontrándose en el 15-20% de los casos<sup>183</sup>. Las aberraciones citogenéticas como la ganancia del cromosoma 1q y 7, y la pérdida de los cromosomas 8p, 11, 16q y i[17]q también son comunes en el Grupo 3.

### 9.3.4- Subgrupo 4

El Grupo 4 de MB representa al subgrupo más común, llegando al 35-40% de todos los casos<sup>116</sup>. Estos tumores ocurren en todos los grupos de edad; aun así, predominan en la infancia y en la adolescencia. Se observa un sesgo muy importante respecto al sexo, con un *ratio* hombre:mujer de 3:1. La histología observada se relaciona con MB clásico y LCA. Un tercio de los pacientes presentan enfermedad metastásica. Similar al subgrupo SHH, los pacientes de este grupo tienen una supervivencia intermedia, pero hay evidencia creciente de heterogeneidad clínica en los de este grupo<sup>184,195</sup>.

Citogenéticamente los MB del Grupo 4 muestran algunas similitudes con el Grupo 3, sobre todo la alta prevalencia de i[17]q, ya que se detecta en el 70-80% de los pacientes

de este grupo. La pérdida del cromosoma X en las mujeres del Grupo 4 es un evento también frecuente (80%)<sup>80</sup>.

Los MB de este grupo siguen siendo los menos entendidos genéticamente, aunque en estudios recientes se han descrito algunos candidatos interesantes como marcadores para este grupo, por ejemplo, el *CDK6* y el *MYCN* son proto-oncogenes que se ven amplificados<sup>122,183</sup>, el gen *KDM6A* aparece frecuentemente deletado homocigóticamente<sup>183</sup>, y las duplicaciones del gen *SNCAIP* también se han descrito exclusivamente para el grupo 4<sup>184</sup>.

## II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



### 1. HIPÓTESIS

Gracias a los ensayos clínicos diseñados para mejorar el diagnóstico y el tratamiento de los meduloblastomas pediátricos, se han alcanzado supervivencias superiores al 70%. Asimismo, se ha comprobado que la estratificación de los tratamientos por riesgo clínico e histológico no es suficiente en muchos casos, ya que estos factores están influenciados por la biología del tumor.

Por esta razón intentamos evaluar hasta qué punto los factores biológicos correlacionan con el comportamiento de la enfermedad tumoral y la supervivencia de este grupo de pacientes. Se pretende entender mejor la biología del tumor, establecer un sistema más preciso de estratificación del tratamiento asociando el riesgo clínico y biológico en los pacientes diagnosticados de MB y ver su interés traslacional.

### 2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es la caracterización de la cohorte nacional de pacientes pediátricos afectados de MB, mediante el estudio de factores pronósticos clínicos y moleculares que tengan relación directa tanto en la supervivencia global como en la supervivencia libre de eventos.

Para ello se plantean los siguientes objetivos secundarios:

- Caracterizar de forma uniforme el riesgo clínico, histopatológico y biológico de todos los pacientes incluidos en el estudio.
- Poner a punto los estudios moleculares en meduloblastomas pediátricos para su inclusión en futuros ensayos clínicos.
- Determinar factores pronósticos moleculares por medio de técnicas validadas de inmunohistoquímica y FISH.
- Análisis de supervivencia global y supervivencia libre de eventos al comparar riesgo biológico asociado al riesgo clínico.

- Confirmar que los resultados obtenidos en nuestra cohorte de pacientes pediátricos son equiparables a los resultados obtenidos por otros grupos, utilizando los mismos parámetros.
- Trasladar los hallazgos obtenidos al grupo de tumores cerebrales de la Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátrica para contribuir a consensuar un tratamiento uniforme de los meduloblastomas en pacientes pediátricos de nuestro país.

### **III. MATERIAL Y MÉTODOS**



## **1. DISEÑO DEL ESTUDIO**

Se trata de un estudio retrospectivo de 187 pacientes pediátricos con edades comprendidas entre 0 y 18 años diagnosticados y tratados de MB en el Hospital Universitario Cruces y otros 23 Hospitales nacionales que han colaborado, entre los años 1975 y 2015.

## **2. POBLACIÓN DE ESTUDIO**

### **2.1- OBTENCIÓN DE LOS CASOS**

Los casos de MB pediátrico de este estudio se analizaron durante el periodo 2007 y el 2015. Tras la petición de colaboración realizada a las unidades de Oncología Pediátrica de hospitales nacionales, algunos centros colaboraron de manera retrospectiva y prospectiva, dado que ya habían participado con el envío de muestras para estudios previos. Mientras que en otros se realizó la colaboración de manera prospectiva.

Los servicios de Anatomía Patológica de los hospitales colaboradores enviaron bloque de tejido tumoral parafinado o en su defecto 5-6 cortes para los estudios histopatológicos y moleculares. Además, se solicitó a los oncólogos pediátricos responsables los datos clínicos de interés (fecha de nacimiento, fecha de diagnóstico, edad al diagnóstico, sexo, estadio T y M, resto tumoral post-cirugía y tratamiento). Con posterioridad, anualmente se solicitaron los datos de seguimiento (recaída, exitus, supervivencia libre de eventos y supervivencia global) de los pacientes incluidos. Todos estos datos, tanto clínicos como moleculares, se recogieron en una base de datos Excel creada para el estudio.

### **2.2- DESCRIPCIÓN DE LA SERIE**

La serie estudiada englobó 218 pacientes con diagnóstico histopatológico de MB. Todos los pacientes fueron diagnosticados en un periodo de 40 años (1975-2015).

**Tabla 9.** Casos enviados por hospitales.

Hospital de procedencia	Casos enviados	Retrospectivos (hasta 2007)	Prospectivos (después 2007)
12 de Octubre	6	5	1
Albacete	4	1	3
General de Alicante	6	6	0
Central de Asturias	6	5	1
Cruces	39	28	11
Gregorio Marañón	3	1	2
Jaén	4	0	4
La Fe	5	5	0
La Laguna	6	1	5
Carlos Haya	18	16	2
Miguel Servet	20	12	8
Niño Jesús	9	0	9
Pamplona	2	2	
Reina Sofía	1	1	0
Ramón y Cajal	6	6	0
Santiago de Compostela	13	12	1
Son Espases	1	0	1
Sant Joan de Deu	7	2	5
Santa Creu í Sant Pau	6	6	0
Toledo	1	1	0
Virgen de la Arrixaca	4	1	3
Vall d'Hebron	35	10	25
Vigo	2	1	1
Virgen del Rocío	14	14	0
<b>TOTAL</b>	<b>218</b>	<b>136</b>	<b>82</b>

### **3. DIAGNÓSTICO Y REVISIÓN HISTOPATOLÓGICA**

La caracterización del tejido tumoral se realizó en primer lugar en los servicios de Anatomía Patológica de los hospitales de procedencia, y tras su envío al Hospital Universitario Cruces, se realizó una revisión patológica centralizada de la muestra para confirmar el diagnóstico de MB que consistió en el examen de preparaciones teñidas con hematoxilina/eosina (H&E) y reticulina partiendo de muestras de tejido tumoral parafinado.

El estudio inmunohistoquímico se amplió incluyendo diferentes anticuerpos de caracterización celular como la proteína fibrilar ácida de la glía (GFAP), sinaptofisina, neurofilamentos (NFP), proteína epitelial de membrana (EMA), INI-1, vimentina y el factor de proliferación Ki-67, para poder excluir otros diagnósticos diferenciales como son las neoplasias astrocíticas y ependimarias, el tumor teratoide/rabdoide atípico, el carcinoma de plexos coroides y otras entidades.

### **4. EXTRACCIÓN DE ADN**

El ADN genómico de las muestras parafinadas se extrajo por método estándar con el kit de extracción DNeasy (Qiagen, Germany). Se procedió según las instrucciones del fabricante.

La cuantificación de la concentración del ADN se determinó con un espectrofotómetro NanoDrop ND-1000 (Thermo Scientific) en un volumen de 2 ul de muestra. La relación obtenida entre las densidades ópticas (DO) medidas a longitudes de onda de 260 y 280 nm (ratio  $DO_{260}/DO_{280}$ ) proporcionó una estimación de la pureza del ADN. Así, valores comprendidos entre 1.8 y 2 indicaron que la pureza del ADN era alta. El ADN se conservó congelado a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su análisis.

### **5. INMUNOHISTOQUÍMICA**

Antes de proceder a la aplicación de la técnica, los cortes de tejidos fijados con formol e incluidos en parafina se sometieron a desparafinación y rehidratación. El procedimiento de la IHQ consistió en sumergir los portas con buffer citrato (pH 6.0) o con buffer Tris-Edta (pH 9) en un módulo de pretratamiento (PT Link, Dako) para realizar el

desenmascaramiento antigénico. Después se dejaron enfriar los portas inmersos en buffer durante 10 min antes de continuar con el proceso. Una vez atemperadas las muestras seguimos la tinción con un sistema de procesamiento de portas automatizado (Autostainer Link48, Dako). El protocolo automatizado comenzó con un lavado con solución tampón, y se bloqueó la peroxidasa endógena durante 5 min con Envision FLEX Peroxiase-Blocking Reagent (Dako). Se volvió a lavar con solución tampón. Se incubaron los portas en la cámara con el anticuerpo primario correspondiente durante 30 min. Pasado el tiempo de incubación se lavaron con solución tampón y se volvieron a incubar en la cámara con el sistema de Visualización durante 30 min. Se lavó con tampón fosfato salino (PBS) y se cubrieron los cortes con cromógeno (Diaminobencidina) 3 min, se hizo otro lavado con PBS (este último paso se repite 3 veces). Finalmente se realizó el contraste con Hematoxilina de Harris durante 1 min, seguido de un par de lavados con agua destilada y PBS. Los portas se deshidrataron y se montaron para su visualización.

Los anticuerpos primarios utilizados para el primer marcaje fueron:

- a) Anticuerpo monoclonal anti-p53, clone DO-7 (Dako Diagnósticos, S.A.)
- b) Anticuerpo policlonal anti- $\beta$ -catenina (Máster Diagnóstica S.L.)

Los resultados se analizaron mediante microscopia óptica.

- p53: se evaluó la expresión de la proteína a partir de la presencia de células tumorales positivas. Se valoraron positivas aquellas células con un núcleo tumoral visible y teñido tanto de forma intensa como débil. Se codificó la expresión de la proteína como la media de los porcentajes de células positivas sobre el número total de células observadas en las 4 zonas más representativas del tumor.
  - Porcentaje bajo de expresión o negativo, tumor con un valor igual o inferior al 50%.
  - Porcentaje alto de expresión o positivo, tumor con un valor superior al 50%.
- $\beta$ -catenina nuclear: se clasificaron las muestras como positivas cuando se detectó expresión nuclear de  $\beta$ -catenina en  $\geq 10\%$  de las células tumorales y negativa en los casos con expresión ausente o inferior al 10%.

## 6. ANÁLISIS DE MUTACIONES EN EL GEN *CTNNB1*

El análisis de mutaciones en el gen *CTNNB1* se llevó a cabo en los casos en que la IHQ de la  $\beta$ -catenina fue positiva o dudosa para contrastarla con el estatus genético.

### 6.1- AMPLIFICACIÓN POR PCR

Así pues, se analizaron las mutaciones en el exón 3 del gen *CTNNB1* (Genbank reference sequence X89579) mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posterior secuenciación de las dos hebras de ADN con el método Sanger.

La mezcla de reacción de PCR consistió en dNTPs (0,2mM), Taq buffer con  $Mg^{+2}$  (1x), cebadores (10 pmol/*primer*), KAPA Taq polimerasa y ADN tumoral (50ng) en un volumen final de 25  $\mu$ l. Las características de los cebadores se detallan en la Tabla 10.

**Tabla 10.** Características de los cebadores (*primers*) utilizados para la secuenciación del exón 3 del gen *CTNNB1*.

<i>Primer</i>	Secuencia	T <sub>m</sub>	Tamaño producto amplificado (pb)
CTNNB1_F	GATTTGATGGAGTTGGACATGG	61°C	218
CTNNB1_R	TGTTCTTGAGTGAAGGACTGAG	57°C	

T<sub>m</sub>: temperatura de *melting*

El proceso de la reacción fue el siguiente: una primera incubación a 95°C durante 5 minutos, y 35 ciclos de reacción que se dividen a su vez en 3 etapas de 30 segundos cada una y que se caracterizan por la temperatura a la que tienen lugar: desnaturalización (95°C), hibridación (60°C) y extensión (72°C). Se añadió un paso final de 10 minutos a 72°C.

El producto de PCR se purificó con el kit QIAquick (Qiagen, Germany). Se procedió según las instrucciones del fabricante.

### 6.2- ELECTROFORESIS EN GEL DE AGAROSA

La electroforesis es la técnica más utilizada para el análisis de DNA. Así, el producto de amplificado de un tamaño de 218pb, se sometió a una electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con GelRed™ (90V y una duración aproximada de 30 minutos). El marcador empleado fue Hyperladder™ V.

### 6.3- SECUENCIACIÓN

La secuenciación de las muestras se llevó a cabo siguiendo el método de Sanger (secuenciación por dideoxinucleótidos). Para ello se utilizó el kit utilizado fue BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems™), que incorpora todos los componentes necesarios para la secuenciación, excepto el DNA y el *primer*. En esta mezcla se incluyen los cuatro dNTPs, una polimerasa y sus cofactores, el tampón de reacción y los cuatro dideoxinucleótidos marcados cada uno con un fluorocromo distinto.

Previamente a la realización de la reacción de secuenciación, es necesario purificar los productos de PCR que se pretende secuenciar. Con dicho proceso se eliminan los restos de dNTPs sobrantes y secuencias de DNA de cadena sencilla (restos de oligonucleótidos). Para ello se llevó a cabo una reacción enzimática con la mezcla de exonucleasa y fosfatasa alcalina, con el kit ExoSap IT (USB).

Posteriormente a la reacción de secuenciación, se purificó el producto mediante el protocolo de precipitación con etanol y acetato sódico, con el fin de eliminar terminadores (dideoxinucleótidos) no incorporados a la reacción y minimizar así el ruido de fondo.

La electroforesis capilar se realizó en los analizadores genéticos ABI3130xl o ABI3130 Genetic Analyzer (Life Technologies), con las condiciones estándar. Tras la electroforesis, la secuencia fue examinada y procesada con la ayuda de los programas Sequencing Analysis v.5.2 software (Life Technologies) y SeqScape v.2.5 software (Life Technologies).

Tras el análisis del electroferograma se procedió al alineamiento de la secuencia obtenida frente a la secuencia consenso de las bases de datos.

## 7. FISH

Es una técnica molecular que utiliza sondas de ADN marcadas con un fluoróforo para detectar o confirmar anomalías génicas o cromosómicas que generalmente están más allá de la capacidad de resolución de la citogenética de rutina. Se puede aplicar sobre núcleos interfásicos de extensiones celulares o cortes de tejido, o directamente en cromosomas. La posibilidad de poder utilizar las técnicas de FISH sobre células que no están dividiéndose es importante en aquellas neoplasias con baja tasa de división celular, como en los síndromes linfoproliferativos crónicos.

En primer lugar, la muestra de ADN se desnaturaliza, proceso que separa las hebras complementarias de la estructura en doble hélice del ADN. A la muestra desnaturalizada se le añade entonces la sonda de interés, marcada con un fluoróforo, que se asociará al ADN de la muestra en el sitio diana, en el proceso denominado hibridación, donde se vuelve a formar una doble hélice. La señal emitida por la sonda se observa mediante un microscopio de fluorescencia y así la muestra de ADN se puede clasificar según la presencia o ausencia de la señal.

Las sondas específicas utilizadas son:

- a) Visas LSI *MYCN* (2p24) SpectrumGreen/Vysis CEP 2 SpectrumOrange Probe, que contiene la combinación de las sondas LSI *MYCN* (2p24) y CEP2 (2p11.1-q11.1) (Abbot Laboratories)
- b) Vysis LSI *MYCC* (8q24.12-q24.13) (Abbot Laboratories)

El protocolo para las muestras parafinadas comenzó con el desparafinado con xilol y la rehidratación con alcoholes decrecientes. Las muestras recibieron un pre-tratamiento con olla a presión con tapón citrato al 1:10 y después fueron digeridas con proteinasa K a 37°C. Se lavaron con tampón 2xSSC y se fijaron con formalina tamponada al 10%. Las muestras lavadas y secas fueron co-desnaturalizadas junto con las sondas a 85°C durante 5 minutos y se dejaron hibridando toda la noche a 37°C. El segundo día se lavaron con 0,3% NP-40/tampón 2xSSC a 72°C un par de veces y se dejaron secar a temperatura ambiente. Finalmente se realizó la contratinción con DAPI antifade.

Los resultados se analizaron mediante microscopia de fluorescencia y la interpretación se hizo de la siguiente manera:

Se contabilizaron señales en  $\geq 200$  núcleos no superpuestos para determinar una muestra representativa (la proporción de señales centroméricas por células individuales). Se consideró un caso amplificado para *MYCC* o *MYCN* cuando el estudio mediante hibridación in situ fluorescente detectó la existencia de un ratio señales *MYCC*/CEN8 en el primero o *MYCN*/2q11 en el segundo superior a 2,2.

## 8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se recogieron los datos relativos a las características clínicas, a los parámetros histopatológicos y a los análisis moleculares de cada paciente en una base de datos Excel.

Inicialmente se procedió con la estadística descriptiva para en segundo lugar realizar la estadística inferencial.

### **Variables**

Para los estudios de supervivencia de los meduloblastomas, se miden dos variables dependientes: la supervivencia libre de evento (SLE) y la supervivencia global (SG). Estas variables se definen como el periodo de tiempo entre el diagnóstico de la enfermedad y la recaída o progresión/exitus respectivamente.

Las variables independientes o covariables fueron las características clínicas, histopatológicas y moleculares consideradas potenciales indicadores pronóstico.

Variables clínicas: sexo, edad, tratamiento, recaída, muerte, riesgo clínico, riesgo molecular y riesgo clínico y molecular.

Variables histopatológicas: estadio T, estadio M, resto tumoral (R) e histología.

Variables moleculares:  $\beta$ -catenina, p53, *MYCC* y *MYCN*.

### **Descripción de la técnica estadística:**

Se realizó un análisis descriptivo de las variables con la distribución de frecuencia y porcentaje de las variables categóricas, y para las variables continuas, la media y la desviación estándar con distribución normal y la mediana y rango intercuartil para las variables con distribución no normal. El análisis de la normalidad se hizo mediante Shapiro-Wilks.

Para analizar las posibles asociaciones de los factores con las variables resultado exitus/recaída se aplicó la prueba de Chi-cuadrado de Pearson. En el caso de que el número de celdas con valores esperados menores de 5 fuera mayor que un 20%, se usó el test exacto de Fisher o el test Razón de verosimilitud para variables con más de dos categorías. Para cada uno de los factores de estudio se realizó un análisis de regresión logística univariante. Aquellas variables que obtuvieron un p-valor menor de 0.2 fueron incluidas en un modelo de regresión multivariante.

Dada la naturaleza de las variables de resultado a estudiar, tiempo hasta la recaída o hasta la muerte del paciente, la técnica a utilizar para poder analizar la influencia de las diferentes covariables de recogida fue el análisis de supervivencia. Se aplicó el método de Kaplan-Meier y las comparaciones entre las supervivencias medias fueron estudiadas

mediante el test log-rank. Los resultados se exponen en porcentajes de supervivencia acumulada al 5º y 10º año desde la fecha del diagnóstico.

Para cada uno de los factores de estudio, además de los análisis de supervivencia anteriores, se realizó un método de regresión univariante de Cox. Esta técnica asume que el riesgo de presentar el evento de estudio por parte del individuo es proporcional entre los diferentes grupos de sujetos creados por una covariable cuando ésta es discreta o por cada aumento de una unidad en dicha covariable si esta es continua.

La representación gráfica de este modelo se realizó mediante la construcción de las curvas de Kaplan-Meier. Con este gráfico se representaron las curvas de supervivencia asociadas a cada categoría de la covariable cuando era discreta y se vio la evolución de la supervivencia a lo largo del tiempo. En cambio, cuando la variable era continua se representó una curva donde se veía la evolución de la supervivencia de los individuos en función de dicha covariable.

En el caso de que se incluya más de una covariable en el modelo, la representación gráfica es ligeramente diferente. En el gráfico se representaron tantas gráficas como posibles combinaciones se pudieron configurar según fueron las covariables del modelo. Por ejemplo, con dos covariables discretas de dos categorías se presentaron cuatro curvas de supervivencia. En cambio, si una de ellas fuera continua se dibujarían dos curvas de supervivencia.

Para poder asegurar que las curvas de supervivencia mostradas en la gráfica fueron diferentes entre sí, lo que se hizo fue, realizar un test de hipótesis donde se asumió como hipótesis nula que todas las curvas eran iguales mientras que la hipótesis alternativa era que existen diferencias.

#### **Interpretación de los resultados obtenidos:**

Una vez ajustado el modelo, la interpretación de los coeficientes se realizó de la misma manera, pero se tuvo en cuenta cuál fue el tipo de covariable que se utilizó.

Si la variable era discreta se tuvo en cuenta que una de las categorías de la covariable se consideró como categoría de referencia y no tenía coeficiente como tal en el modelo, pero sí curva de supervivencia en el gráfico de Kaplan-Meier. La interpretación se hizo de la siguiente manera; los  $n-1$  coeficientes asociados a una covariable de  $n$  categorías eran

el incremento o decremento del riesgo de que un individuo presentara el evento de interés en comparación con un individuo que pertenece a la categoría de referencia.

En cambio, si la covariable era continua únicamente tenía asociado un coeficiente en el modelo y representaba el incremento o decremento del riesgo de presentar el evento de interés por cada aumento de una unidad del valor de la covariable.

En el caso de que se quieran ajustar más de una covariable se tendrán varios coeficientes en el modelo, uno para cada covariable continua y  $n-1$  para cada covariable discreta de  $n$  categorías. La interpretación de cada coeficiente es el incremento o decremento en el riesgo de presentar el evento de interés cuando se mantienen fijas todas las demás covariables por cada aumento en unidad (si la covariable es continua) o frente a la categoría de referencia (si la covariable es discreta). Eso sí controlado por el resto de variables incluidas. En todas las pruebas se consideró un nivel de significación estadística de  $p < 0.05$ .

### **Software estadístico:**

El software estadístico utilizado para ajustar los diferentes modelos considerados, fue el software de libre distribución R en la versión 3.3.1<sup>196</sup> junto con el *package survival* en la versión 2.38<sup>197</sup> para ajustar los análisis de supervivencia y construir las gráficas de Kaplan-Meier.

## **IV. RESULTADOS**

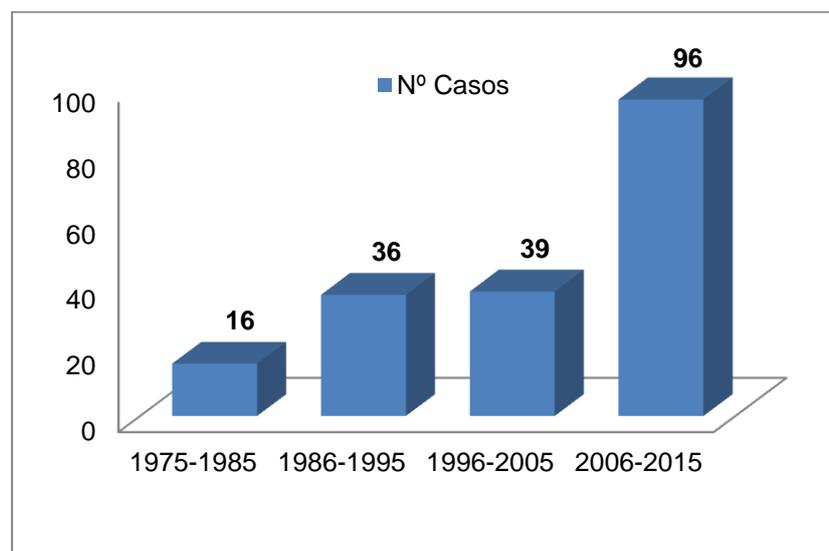


## 1. DESCRIPCIÓN DE LA SERIE

Se partió de un total de 218 pacientes registrados en la base de datos de MB pediátrico de la unidad de investigación de oncología pediátrica del Hospital Universitario Cruces, de los cuales se descartaron 31 casos por las siguientes razones; 4 casos por confirmarse otra histología diferente de MB o por no ser concluyente por escasez de material tumoral. Los otros 27 casos fueron descartados por el acceso limitado a las historias clínicas de los pacientes y/o muestra tumoral, al tratarse de casos antiguos.

Finalmente, la serie estudiada englobó 187 pacientes con diagnóstico histopatológico de MB.

Todos los pacientes fueron diagnosticados en un periodo de 40 años (1975-2015). Su distribución en el tiempo fue más homogénea en la segunda y tercera década, con 37 y 38 casos diagnosticados respectivamente. En la Figura 16 se puede ver con más detalle la distribución temporal de los casos. La media fue de 4.7 casos/año.



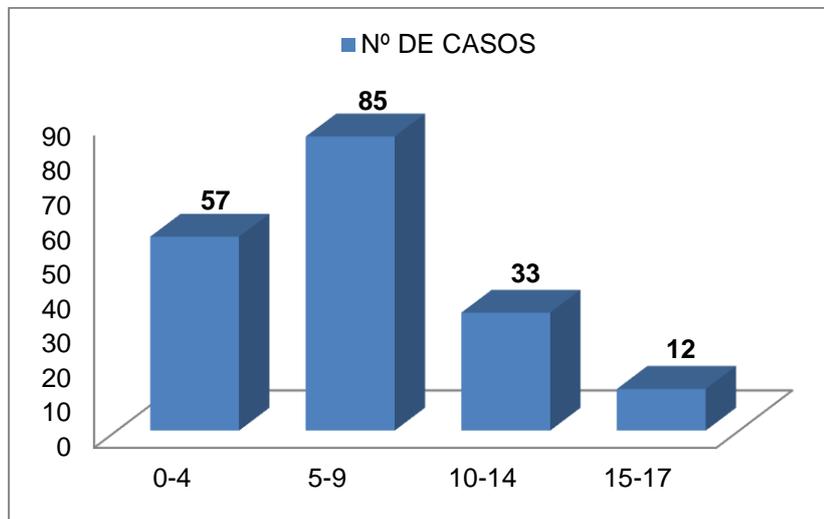
**Figura 16.** Distribución de la serie por décadas desde 1975 a 2015.

### 1.1- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E HISTOPATOLÓGICAS

#### Edad

La edad media de los pacientes al diagnóstico fue de 6.9 años, teniendo en cuenta que la edad pediátrica se considera de 0 a 18 años en España. La distribución de los pacientes según la edad se puede ver en la Figura 17, mostrándose un pico de incidencia mayor en

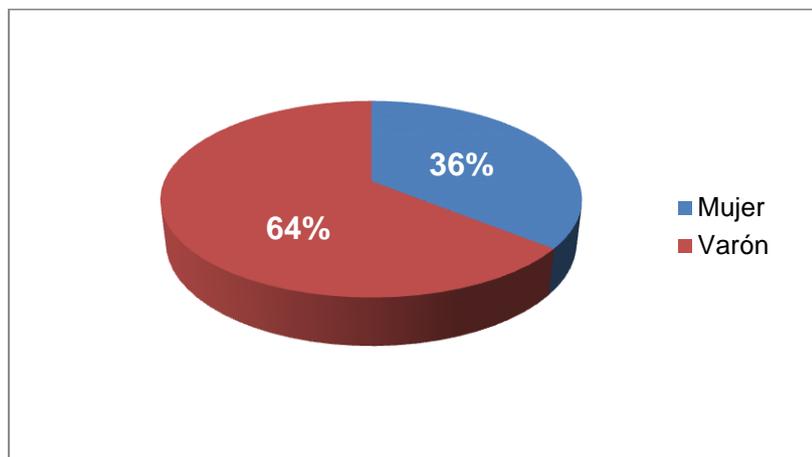
la franja de edad de los 5 a los 9 años. En nuestra serie, el 75.9% de los casos de MB se diagnosticaron antes de los 10 años.



**Figura 17.** Distribución de la serie por edades.

### Sexo

En la serie estudiada se observó mayor frecuencia de varones, 120 casos (64%), frente a mujeres, con 67 casos (36%). Esto supone una relación varón/mujer de 1.7:1.



**Figura 18.** Distribución de los pacientes en función del sexo.

### Estadaje de la Clasificación de Chang

El estadio T, que corresponde al tamaño tumoral, se pudo recoger en 169 pacientes del total de la serie. La mayoría de los pacientes (57.4%) fueron T3 (T3a+T3b), seguido de estadio T2 (34.9%) y T4 (6.5%). Solo hubo 2 casos en estadio T1. La Tabla 11 muestra la distribución por estadio T.

**Tabla 11.** Estadaje T de la Clasificación de Chang.

Estadio T	Nº de casos	Porcentaje
<b>T1</b>	2	1.2%
<b>T2</b>	59	34.9%
<b>T3 (T3a y T3b)</b>	97	57.4%
<b>T4</b>	11	6.5%
<b>Total</b>	169	

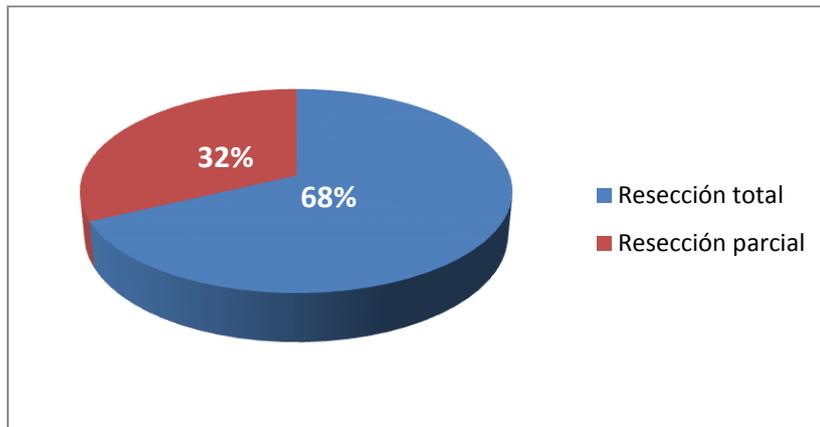
El estadio M mide el grado de diseminación de la enfermedad, y este dato se pudo recoger de 174 pacientes de la serie. Se observó enfermedad localizada, correspondiente a estadio M0, en la mayoría de los pacientes (75.3%), mientras que un 24.6% de los pacientes presentaron metástasis (M+) al diagnóstico. Hubo 3 casos aislados de células tumorales en LCR (M1). Las metástasis nodulares del espacio subaracnoideo, fueron 3 veces más frecuentes en el canal medular (M3) que en la región supratentorial (M2). Ningún paciente de esta muestra presentó metástasis fuera del SNC (M4).

**Tabla 12.** Estadaje M de la Clasificación de Chang.

Estadio M	Nº de casos	Porcentaje
<b>M0</b>	131	75.3%
<b>M1</b>	3	1.7%
<b>M2</b>	10	5.7%
<b>M3</b>	30	17.2%
<b>M4</b>	0	0
<b>Total</b>	174	

**Resto tumoral (R)**

Todos los pacientes tuvieron un abordaje quirúrgico como parte del tratamiento tras el diagnóstico, y se obtuvo este dato de 184 casos. La figura 19 muestra el grado de resección quirúrgica. Se informó una resección total (R0) en 125 casos (68%) y una resección parcial en 59 casos (32%).



**Figura 19.** Distribución de los pacientes en función del resto tumoral.

Dado el valor pronóstico de la extensión de la resección, se midió el resto mediante RMI tras la cirugía y se especificó si el tamaño excedía de 1.5 cm<sup>2</sup> o no, ya que este valor es considerado crítico para la supervivencia. En nuestra serie hubo 10 casos con una resección subtotal  $\geq 1.5$  cm<sup>2</sup> asociada a un peor pronóstico y 49 casos con resección casi total y con mejor pronóstico.

**Tabla 13.** Resto tumoral (R).

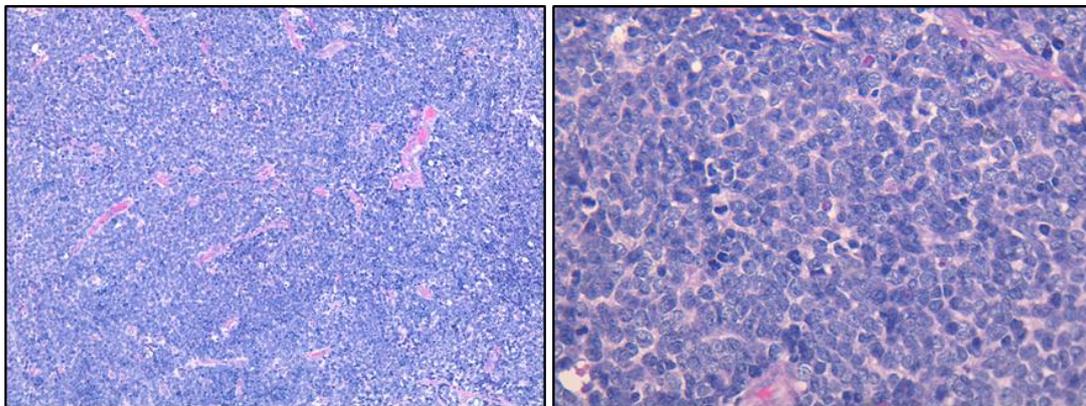
Resto	Nº de casos	Porcentaje
<b>R0</b>	125	67.9%
<b>R&lt;1.5 cm<sup>2</sup></b>	49	26.6%
<b>R<math>\geq</math>1.5 cm<sup>2</sup></b>	10	5.4%
<b>Total</b>	184	

### Patrón histológico

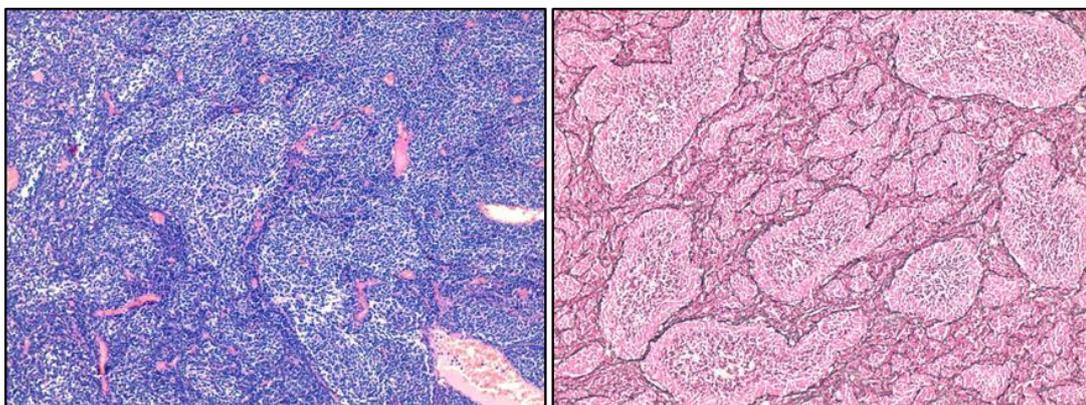
Se pudo obtener la histología en todos los casos de la serie, 187 pacientes, realizándose una revisión centralizada de las muestras remitidas de otros centros. Tras la clasificación de acuerdo con las directrices de WHO 2007, el MB clásico fue el tipo más frecuente, presente en el 67.4 % de las muestras. En segundo lugar, el tipo desmoplásico (16.6%), seguido del LCA (11.8%) y finalmente, hubo 9 casos del tipo MB de nodularidad extensa (Tabla 14).

**Tabla 14.** Distribución de los casos por tipo de histología.

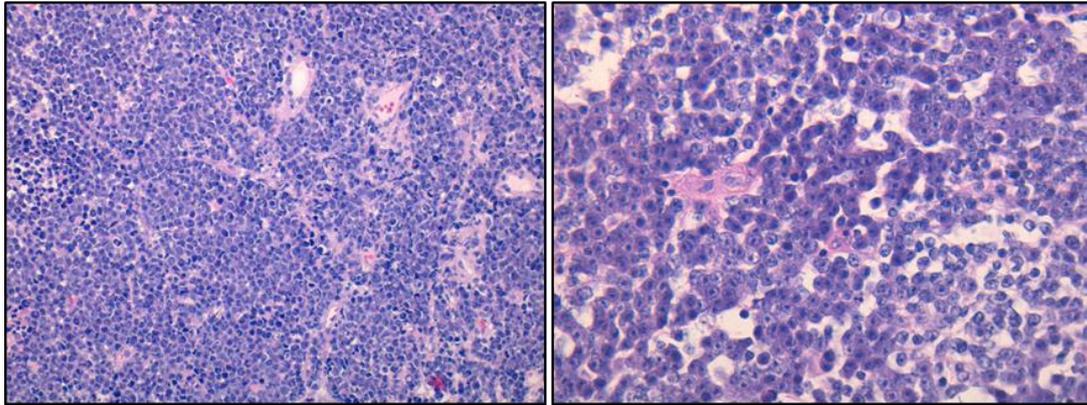
Tipo Histológico	Nº de casos	Porcentaje
<b>Clásico</b>	126	67.4%
<b>Desmoplásico</b>	31	16.6%
<b>LCA</b>	22	11.8%
<b>Nodularidad Extensa (MBEN)</b>	8	4.3%
<b>Total</b>	187	



**Figura 20.** Medulloblastoma clásico (Hematoxilina-eosina, x40 y x400)



**Figura 21.** Medulloblastoma nodular/desmoplásico (Hematoxilina-eosina y reticulina, x100)



**Figura 22.** Meduloblastoma anaplásico/célula grande (Hematoxilina-eosina, x10 y x400)

## 1.2- DETERMINACIONES MOLECULARES

### Expresión nuclear de $\beta$ -catenina

Como se observa en la Tabla 15, de los 182 análisis realizados por inmunohistoquímica en 10 casos se demostró la positividad de acumulación nuclear de  $\beta$ -catenina, siendo 172 casos negativos. No se pudo realizar el análisis en 5 pacientes de los 187 previstos inicialmente por falta de material tumoral.

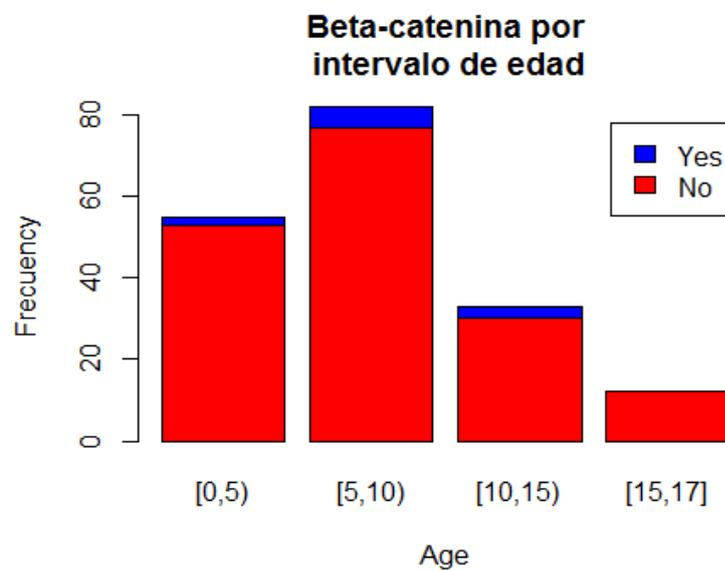
**Tabla 15.** Análisis inmunohistoquímico de  $\beta$ -catenina.

$\beta$ -catenina		
<b>Positivo</b>	10	5.5%
<b>Negativo</b>	172	94.5%
<b>Total</b>	182	

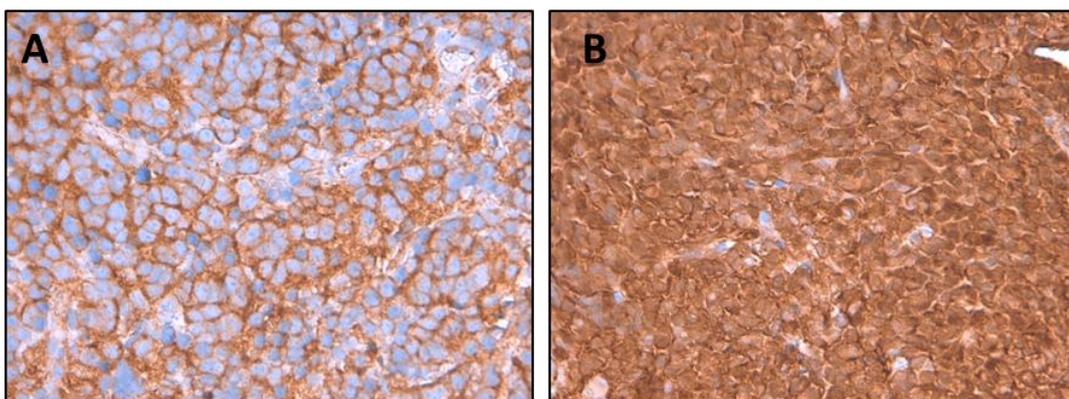
Al analizar la expresión de  $\beta$ -catenina nuclear por franja de edad (Tabla 16), en los pacientes de 0 a 4 años solo se encontraron 2 pacientes  $\beta$ -catenina positivos de los 55 analizados. Para el rango de [5-10] de 82 pacientes 5 fueron positivos. De los 33 pacientes entre 10 y 14, hubo 3 casos positivos y ninguno en los 12 pacientes de 15 años o mayores.

**Tabla 16.** Distribución del análisis inmunohistoquímico de  $\beta$ -catenina por rango de edad.

Rango edad	$\beta$ -catenina	
	Negativo	Positivo
[0-5)	53	2
[5-10)	77	5
[10-15)	30	3
[15-17]	12	0



**Figura 23.** B-catenina por rango de edad.



**Figura 24.** Expresión nuclear de  $\beta$ -catenina. (A)  $\beta$ -catenina nuclear negativa, solo se aprecia expresión citoplasmática, y (B)  $\beta$ -catenina positiva, se observa acumulación en el 100% de los núcleos tumorales. Imágenes de casos del estudio.

**Expresión de p53**

En la expresión nuclear del p53 de un total de 170 muestras en las que se pudo hacer el análisis inmunohistoquímico, se consideraron positivos aquellos con expresión  $\geq 50\%$ . Se observó un 18.2% de positivos que correspondía a 31 pacientes, siendo negativos el 81.8% restantes. En 17 de los casos no se pudo obtener este dato por falta de muestra tumoral.

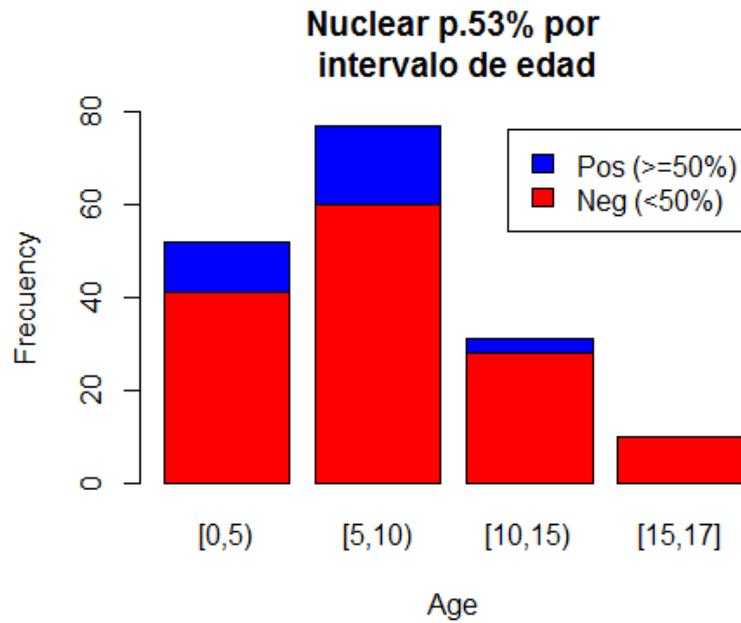
**Tabla 17.** Análisis inmunohistoquímico de p53.

P53		
<b>Positivo</b>	31	18.2%
<b>Negativo</b>	139	81.8%
<b>Total</b>	170	

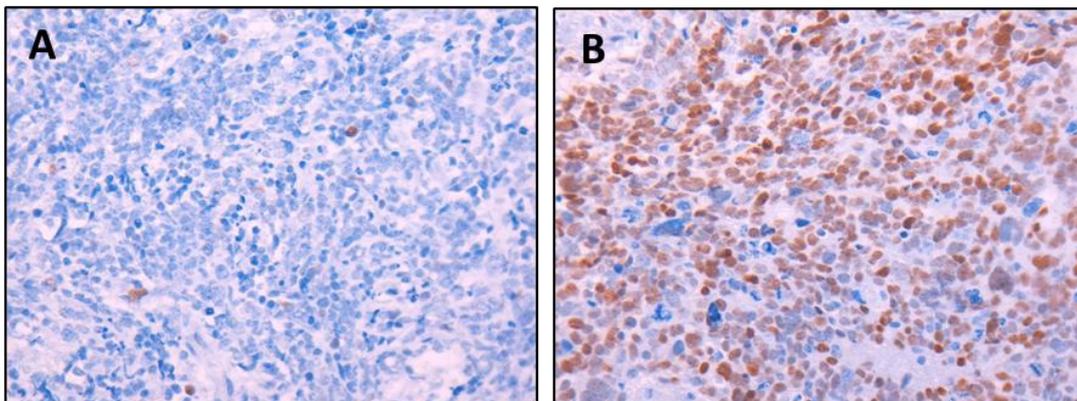
En la Tabla 18 se observa la expresión de p53 por franja de edad. Los casos positivos se dan en la franja de 0 a 4 años, con 11 positivos, en edades comprendidas entre 5 y 9 años, con 17 casos positivos, y 3 casos en los pacientes con edades entre 10 y 14 años. No hubo ninguno positivo en los 10 pacientes de 15 años o más.

**Tabla 18.** Distribución del análisis inmunohistoquímico de p53 por rango de edad.

Rango edad	p53	
	Negativo	Positivo
<b>[0-5)</b>	41	11
<b>[5-10)</b>	60	17
<b>[10-15)</b>	28	3
<b>[15-17]</b>	10	0



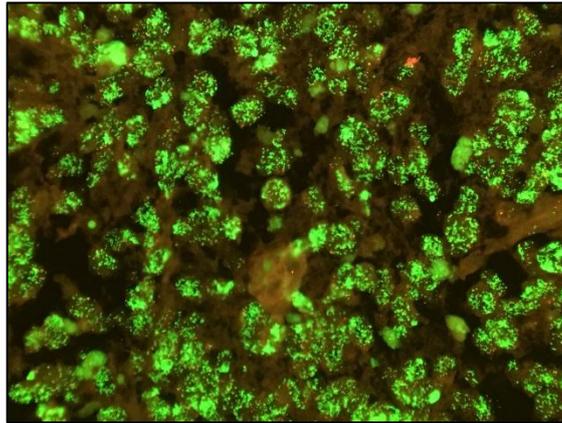
**Figura 24.** Expresión de p53 por rango de edad.



**Figura 25.** Expresión nuclear de p53. (A) p53 negativo (<50%) y (B) p53 positivo ( $\geq$ 50%). Imágenes de casos del estudio.

### **Amplificación gen *MYCC* y gen *MYCN***

En el análisis por FISH de los genes *MYCC* y *MYCN* se observó amplificación en un 8.4% y un 4% respectivamente. Solamente hubo un paciente que presentó amplificación en ambos genes. Se pudo obtener el dato en 178 pacientes para *MYCC* y en 177 pacientes para *MYCN*.



**Figura 26.** Amplificación de *MYCN*. Imagen de un caso del estudio.

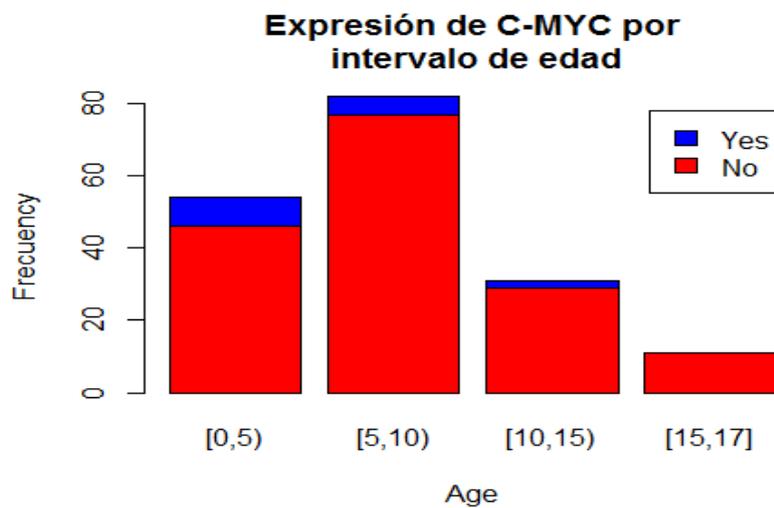
**Tabla 19.** Análisis de amplificación de *MYCC* y *MYCN* por FISH.

<i>MYCC</i>		
<b>Positivo</b>	15	8.4%
<b>Negativo</b>	163	91.6%
<b>Total</b>	178	
<i>MYCN</i>		
<b>Positivo</b>	7	4%
<b>Negativo</b>	170	96%
<b>Total</b>	177	

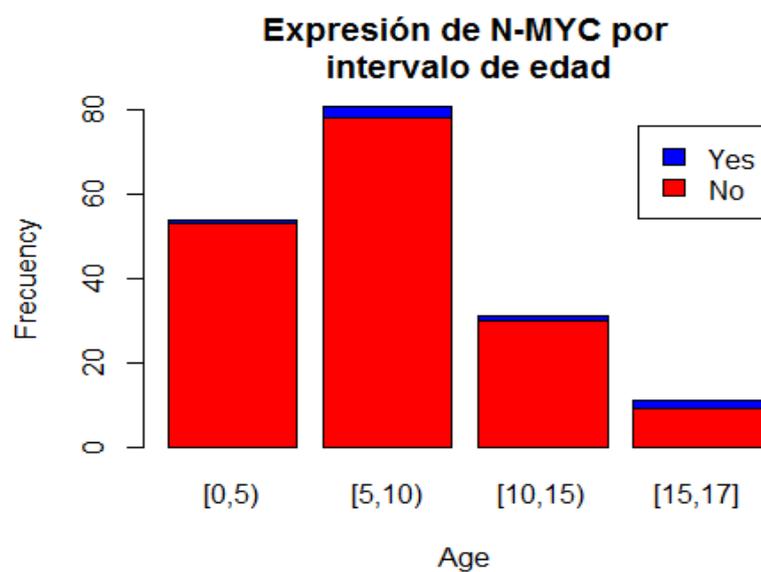
En la Tabla 20 se observa la amplificación de *MYCC/MYCN* por franja de edad. Los casos positivos se dan en la franja de 0 a 4 años con 9 positivos, en edades comprendidas entre 5 y 9 años con 8 casos positivos, 3 casos en los pacientes con edades entre 10 y 14 años, y finalmente, en los  $\geq 15$  años 2 casos.

**Tabla 20.** Distribución por rango de edad del análisis de MYCC y MYCN por FISH.

Rango edad	MYCC		MYCN	
	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo
[0-5)	46	8	53	1
[5-10)	77	5	78	3
[10-15)	29	2	30	1
[15-17]	11	0	9	2



**Figura 27.** Expresión de MYCC por intervalo de edad.



**Figura 28.** Expresión de MYCN por intervalo de edad.

### 1.3- TRATAMIENTOS DEL MEDULOBLASTOMA

Los pacientes de este estudio se trataron con protocolos específicos para el MB pediátrico. Se obtuvo este dato en 183 casos. Resaltar que 3 de estos pacientes fallecieron tras la cirugía. En 4 casos no se pudo obtener este dato.

Los protocolos más aplicados resultaron ser los europeos PNET 3 y PNET 4 para MB de riesgo estándar, y el HART de Milán para tratamiento de MB de alto riesgo. En casos más concretos y sobre todo más antiguos (18 casos), se recurrió a protocolos norteamericanos (CCG 921<sup>30</sup>, CCG 9892<sup>26</sup>, CCG 9931<sup>198</sup>).

**Tabla 21.** Tratamientos administrados a los sujetos de estudio.

Protocolo	Nº de casos	Porcentaje
HEAD START	7	3.8%
HIT-SKK'92	6	3.3%
HART-MILAN	19	10.4%
SIOP I	6	3.3%
SIOP II	15	8.2%
PNET 3	29	15.8%
PNET 4	80	43.7%
OTROS	18	9.8%
No tratamiento	3	1.6%
<b>Total tratados</b>	<b>183</b>	

HEAD START<sup>199,200</sup>, HIT-SKK'92<sup>75</sup>, HART-MILAN<sup>35</sup>, SIOP I<sup>97</sup>, SIOP II<sup>95</sup>, PNET 3<sup>27</sup>, PNET 4<sup>144</sup>

### 1.4- CARACTERIZACIÓN POR RIESGO

Se evaluaron por riesgo los pacientes de este estudio; primero, según sus características clínicas; segundo, por los resultados moleculares; y por último, teniendo en cuenta ambos riesgos, clínico y biológico.

### Riesgo clínico

Las características utilizadas para determinar el riesgo clínico en cada caso fueron la edad al diagnóstico, la extensión de la enfermedad (metástasis) y el resto tumoral después de la cirugía. Este dato se obtuvo en 174 pacientes, ya que en 13 de ellos no se pudo determinar por falta de alguno de los factores. Así, un 63.8% de los pacientes cumplieron con los criterios de riesgo estándar, mientras que un 36.2% presentaron un perfil de alto riesgo.

**Tabla 22.** Riesgo clínico

Riesgo clínico	Nº casos	Porcentaje
Riesgo estándar	111	63.8%
Alto riesgo	63	36.2%
<b>Total</b>	<b>174</b>	

### Riesgo biológico

En la valoración del riesgo biológico se obtuvieron datos completos en 177 casos, mientras que en 10 pacientes el análisis fue incompleto. Cumplieron criterios de riesgo estándar 156 pacientes (88.1%), y criterios de alto riesgo 21 de los pacientes (11.9%). Se consideró alto riesgo aunque solo presentaran un marcador positivo.

**Tabla 23.** Riesgo biológico

Riesgo biológico	Nº casos	Porcentaje
Riesgo estándar	156	88.1%
Alto riesgo	21	11.9%
<b>Total</b>	<b>177</b>	

### Riesgo clínico y biológico

Al asociar ambos criterios de riesgo, de los 111 casos considerados inicialmente de riesgo clínico estándar se quedaron como tales 94. De los 75 pacientes de alto riesgo, la distribución correspondió a: 9 pacientes de alto riesgo clínico y también biológico, 53 casos de alto riesgo clínico pero de bajo riesgo biológico, 12 de riesgo clínico estándar con características biológicas de alto riesgo y un paciente de alto riesgo clínico sin datos

moleculares. En 18 pacientes del estudio no se pudo asociar el riesgo por factores clínicos y biológicos. (Ver Tablas 24 y 25)

**Tabla 24.** Riesgo clínico y biológico

Riesgo clínico y biológico	Nº casos	Porcentaje
<b>Riesgo estándar</b>	94	55.6%
<b>Alto riesgo</b>	75	44.4%
<b>Total</b>	169	

**Tabla 25.** Riesgo clínico y biológico del total de la muestra (187 pacientes).

Riesgo clínico	Riesgo biológico	Riesgo clínico y biológico	Nº casos
<b>HR</b>	HR	HR	9
<b>SR</b>	SR	SR	94
<b>HR</b>	SR	HR	53
<b>SR</b>	HR	HR	12
<b>HR</b>	NA	HR	1
<b>NA</b>	SR	NA	9
<b>SR</b>	NA	NA	5
<b>NA</b>	NA	NA	4

\*SR= riesgo estándar; HR= alto riesgo; NA= No disponible

### 1.5- SUPERVIVENCIA

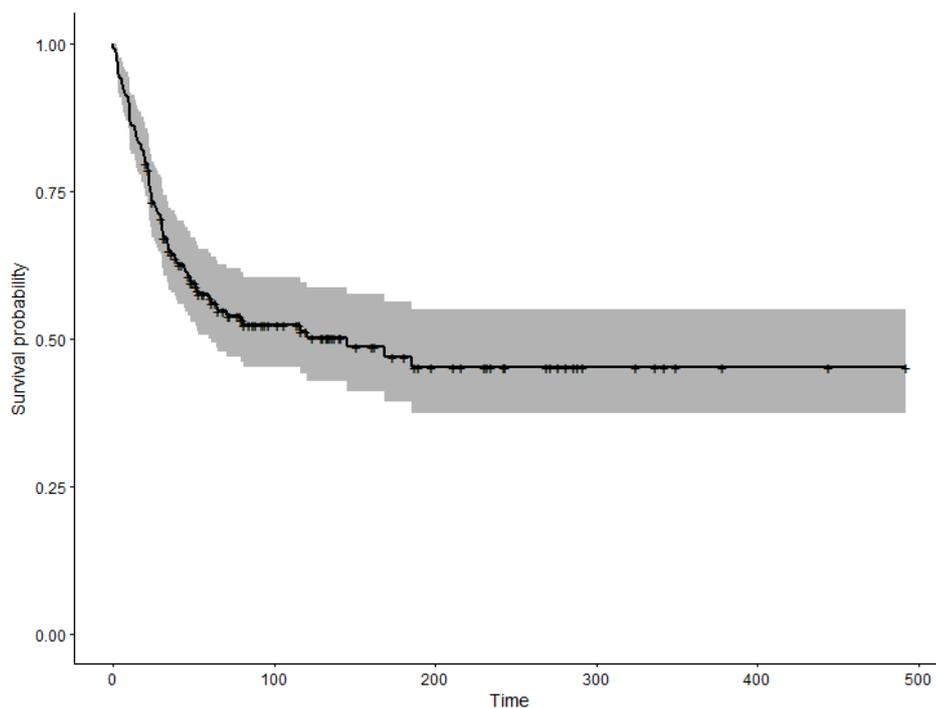
Se pudo obtener información respecto a la recaída y a la muerte de los 187 sujetos del estudio (ver Tabla 26).

Al describir los eventos recaída y muerte, se obtuvo un seguimiento  $\leq 5$  años en 110 pacientes y superior a 5 años en 77 pacientes. Entre estos últimos hubo 41 casos con  $>10$  años de seguimiento. El promedio de seguimiento de los pacientes fue de 7,2 años.

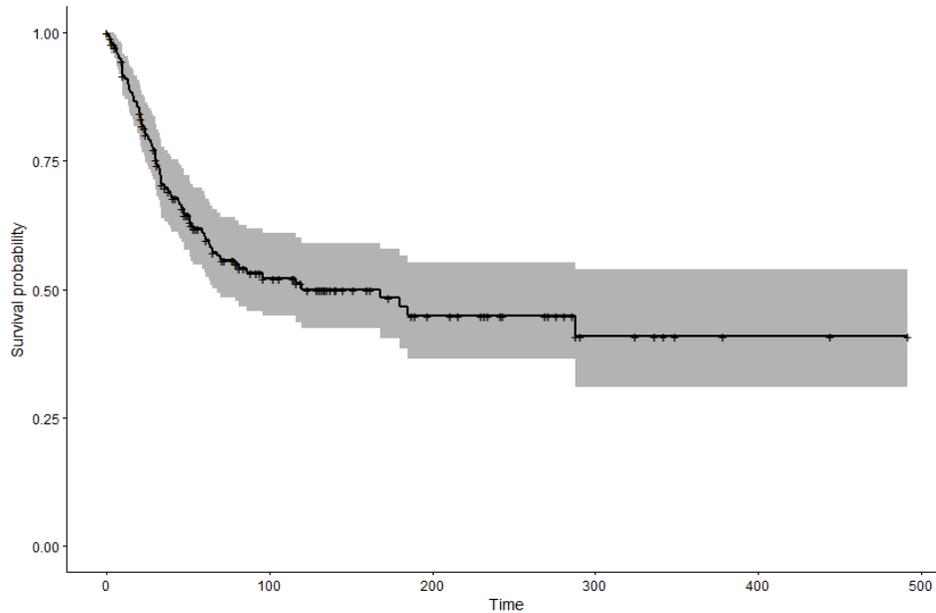
Un total de 89 pacientes fallecieron a lo largo del estudio. El tiempo medio de la supervivencia global fue de 86 meses, en un rango de 0 a 492 meses. La supervivencia global a 5 años fue del 57% (IC 95% 50-65%) y a los 10 años del 50% (IC 95% 43-59%) (Figura 29).

**Tabla 26.** Casos de recaída y muerte de los pacientes del estudio.

Evento	Nº de casos	Porcentaje
<b>Recaída y muerte</b>	72	38.5%
<b>Recaída</b>	10	5.3%
<b>Muerte</b>	17	9.1%
<b>No recaída, no muerte</b>	88	47.1%
<b>Total</b>	187	

**Figura 29.** Supervivencia global de los sujetos del estudio.

En el 43.9% de los pacientes se registró al menos un primer evento tras el diagnóstico. El tiempo medio de la supervivencia libre de eventos fue de 76.2 meses, en un rango de 0 hasta 492 meses. La supervivencia libre de eventos a 5 años fue del 60% (IC 95% 53-68%) y a los 10 años del 50% (IC 95% 42-59%) (Figura 30).



**Figura 30.** Supervivencia libre de eventos de los sujetos del estudio.

En la valoración de los resultados por edad del paciente al diagnóstico, la mayoría de recaídas y muertes corresponde a los menores de 10 años como se aprecia en la Tabla 27 y en las Figuras 31 y 32. Sin embargo, los eventos ocurren en porcentajes similares en cada franja de edad.

**Tabla 27.** Frecuencia de recaída y muerte observadas por rango de edad.

Rango edad	Recaída		Muerte	
	No	Si	No	Si
<b>[0-5)</b>	37 (65%)	20 (35%)	32 (56.1%)	25 (43.9%)
<b>[5-10)</b>	42 (49.4%)	43 (50.6%)	43 (50.6%)	42 (49.4%)
<b>[10-15)</b>	20 (60.6%)	13 (39.4%)	16 (48.5%)	17 (51.5%)
<b>[15-17]</b>	6 (50%)	6 (50%)	7 (58.3%)	5 (41.7%)

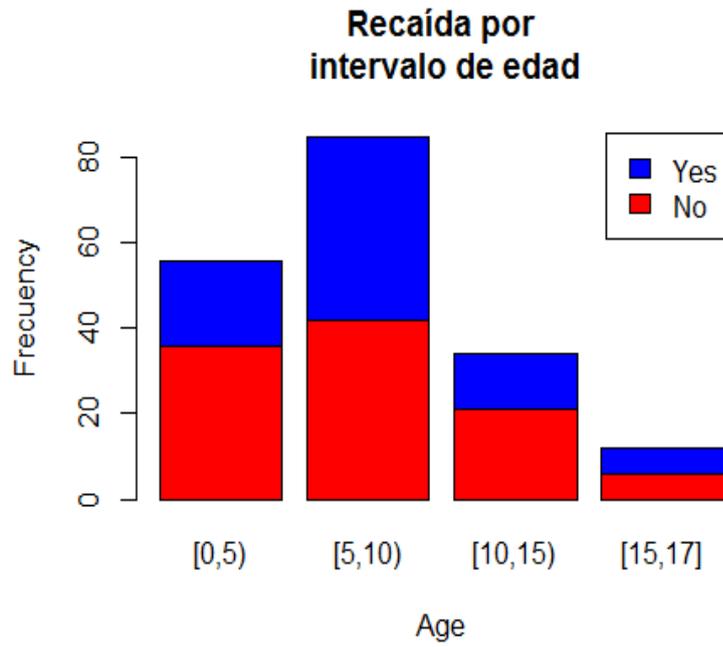


Figura 31. Recaída por intervalo de edad.

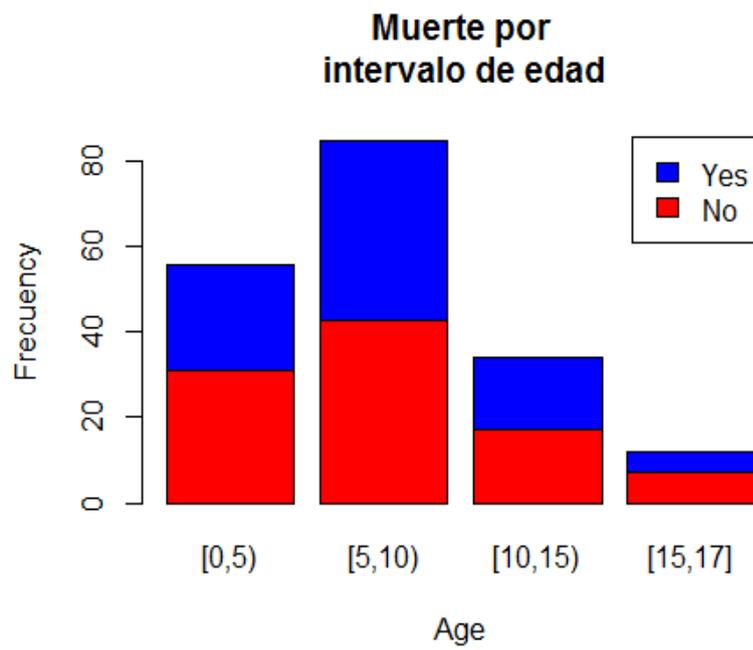


Figura 32. Muerte por intervalo de edad.

## 2. ANÁLISIS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA UNIVARIANTE Y MULTIVARIANTE SEGÚN VARIABLES DE RIESGO

### 2.1- REGRESIÓN LOGÍSTICA UNIVARIANTE

En este estudio se planteó el efecto que pudieran llegar a tener las distintas variables en el evento Muerte. En univariante se analizaron las variables una a una sin tener en cuenta la influencia del resto de variables. El p-valor indica la significancia de que influya dicha variable en la variable Muerte. Como se observa en la siguiente tabla, las variables con significación son: la histología del tipo LCA, los estadios M2 y M3 de la metástasis, el resto tumoral  $<1.5 \text{ cm}^2$ , el riesgo clínico alto, el riesgo clínico y biológico alto, y la amplificación de MYCC.

**Tabla 28.** Regresión univariante de las variables de estudio.

Variable	p-valor	OR (95% CI)
<b>Sexo</b>	0.236	0.69441 (0.38-1.27)
<b>Histología</b>		
Desmoplásica	0.056	0.43592 (0.19-1.02)
LCA	0.017	3.623 (1.260-10.421)
Extensa nodularidad	0.216	0.355 (0.069-1.827)
<b>Estadio T</b>	0.756	0.63889 (0.04-10.73)
<b>Estadio M</b>		
M1	0.985	9327656.83322 (0-Inf)
M2	0.062	3.780 (0.934-15.293)
M3	0.032	2.430 (1.080-5.564)
<b>Resto tumoral (R)</b>		
R $<1.5 \text{ cm}^2$	0.003	2.82353 (1.42-5.62)
R $>1.5 \text{ cm}^2$	0.538	1.500 (0.413-5.450)
<b>Riesgo clínico (HR)</b>	0.004	2.52596 (1.34-4.76)
<b>Riesgo biológico</b>	0.120	2.10294 (0.82-5.36)
<b>Riesgo clínico y biológico (HR)</b>	0.005	2.46591 (1.32-4.6)
<b>MYCC amplificado</b>	0.036	3.56338 (1.09-11.6)
<b>MYCN</b>	0.875	0.88462 (0.19-4.07)
<b>B-catenina</b>	0.638	0.73171 (0.2-2.68)
<b>p53 nuclear</b>	0.957	0.97886 (0.45-2.13)

2.2- REGRESIÓN MULTIVARIANTE

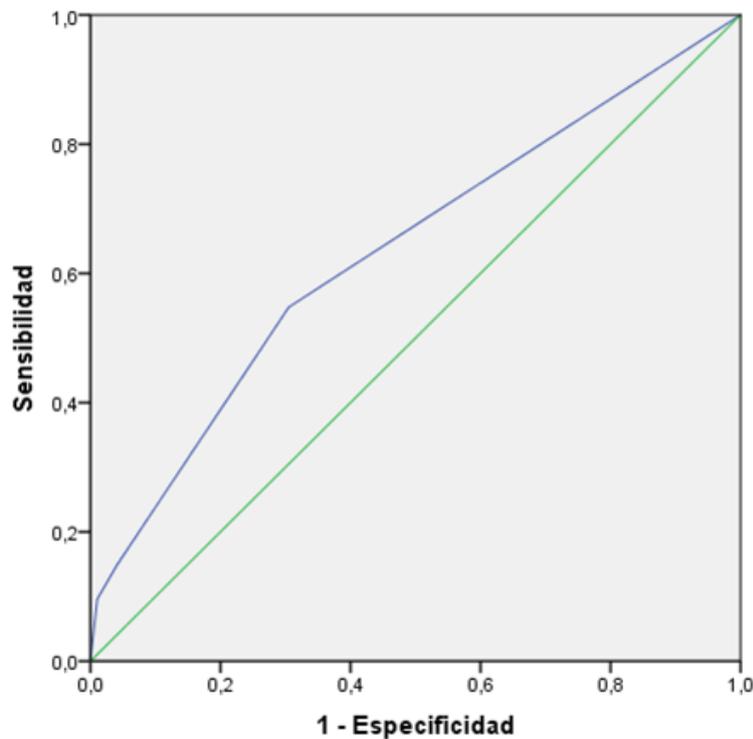
Con las variables significativas con un p-valor <0.200 se realizó una regresión multivariante. Estas variables fueron: la histología, el resto tumoral, riesgo clínico y MYCC. Como resultado solo se obtuvo un modelo con dos variables; riesgo clínico y MYCC, que se correlacionan significativamente con la supervivencia.

**Tabla 29.** Análisis de regresión multivariante del estudio.

	p-valor	OR	95% C.I. para OR	
			Inferior	Superior
Paso 1 <sup>a</sup> Riesgo clínico(1)	,007	2,459	1,279	4,728
MYCC(1)	,037	3,647	1,084	12,269
Constante	,001	,489		

**Tabla 30.** Prueba de Hosmer y Lemeshow

Paso	Chi-cuadrado	gl	Sig.
1	,028	1	,866



Los segmentos de diagonal se generan mediante empates.

**Figura 33.** Análisis de la curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*)

### 3. ANÁLISIS BIVARIANTE DE LA SUPERVIVENCIA GLOBAL SEGÚN LOS FACTORES PRONÓSTICO

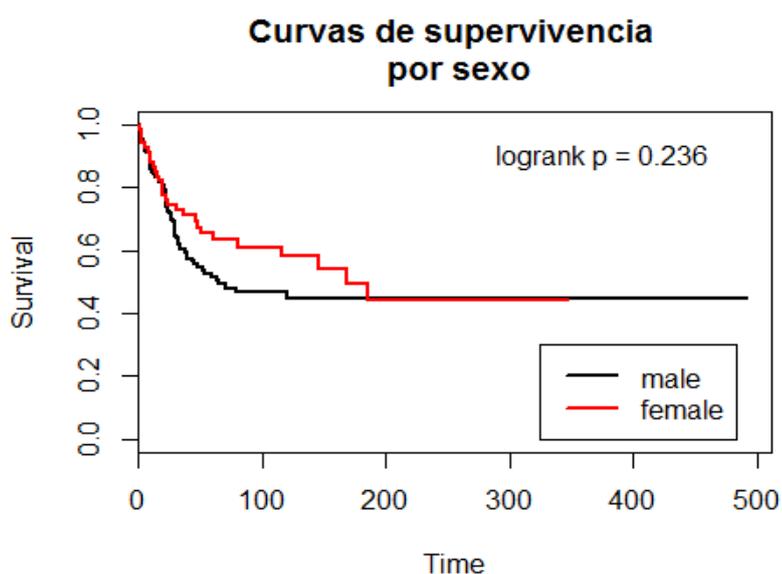
Para cada modelo ajustado, uno por cada variable independiente, se va a presentar la curva de supervivencia de Kaplan-Meier con el p-valor del test logrank que evalúa si las curvas de supervivencia obtenidas son diferentes o no, y una tabla con los coeficientes del modelo.

#### 3.1- VARIABLE SEXO

Las mujeres de este estudio presentan un 24% menos de probabilidad de muerte que los hombres. El coeficiente asociado al sexo fue de 0.76 con un intervalo de confianza del 95% de (0.48-1.19). Aunque como podemos observar en el gráfico de la Figura 34 no hay significación estadística ( $p=0.236$ ). Se observan similares porcentajes de recaída y exitus por género.

**Tabla 31.** Frecuencias de recaída y muerte observadas por sexo.

Sexo	Recaída	Muerte
<b>Hombre (n=120)</b>	52 (43.3%)	61 (50.8%)
<b>Mujer (n=67)</b>	30 (44.8%)	28 (41.8%)



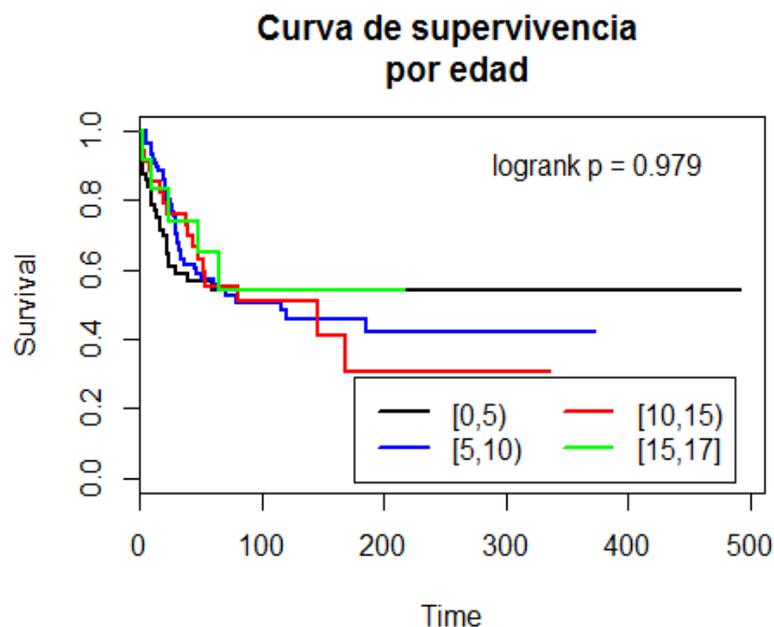
**Figura 34.** Curva de supervivencia por sexo del paciente.

### 3.2- VARIABLE EDAD

Para este análisis se dividieron los pacientes en 4 rangos de edad: 0-4, 5-9, 10-14 y 15-17 años. Se tomó como categoría de referencia el intervalo 0-4. Como se aprecia en la siguiente tabla (Tabla 32), no se obtuvieron riesgos estadísticamente significativos.

**Tabla 32.** Coeficientes del modelo estadístico de supervivencia por rango de edad.

Rango edad	Hazard Ratio	Int. Conf. (95%)	p
[5-10)	0.953	0.580-1.564	0.849
[10-15)	0.983	0.530-1.822	0.958
[15-17]	0.811	0.310-2.121	0.670



**Figura 35.** Curva de supervivencia por edad del paciente al diagnóstico.

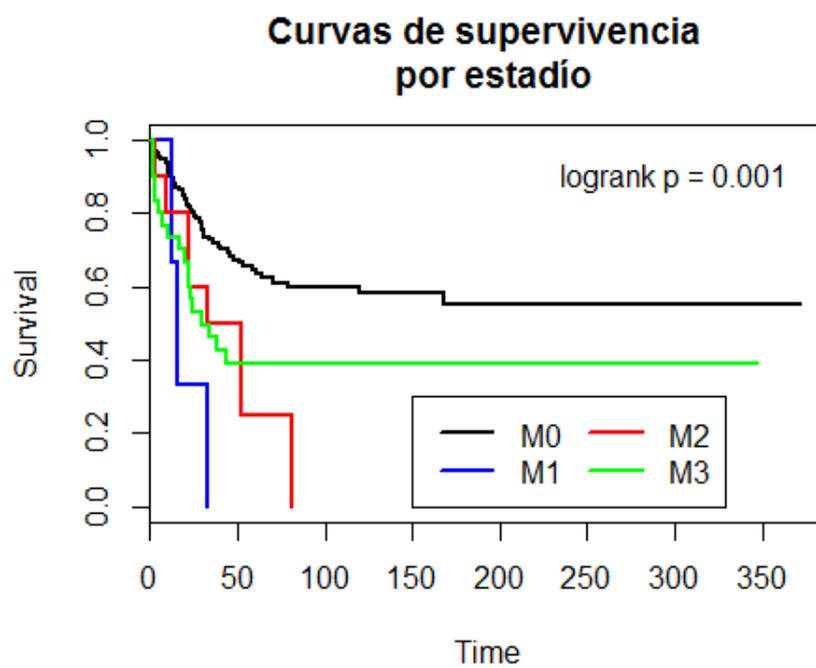
### 3.3- VARIABLE ESTADIO M

Considerando como variable de referencia M0, es decir, ausencia de metástasis, se obtuvieron resultados estadísticamente significativos asociados a los otros estadios. Los pacientes con estadio M1 presentan un riesgo 5.32 veces mayor de muerte que los pacientes M0. Los pacientes con estadio M2 presentan un riesgo 2.41 veces mayor de

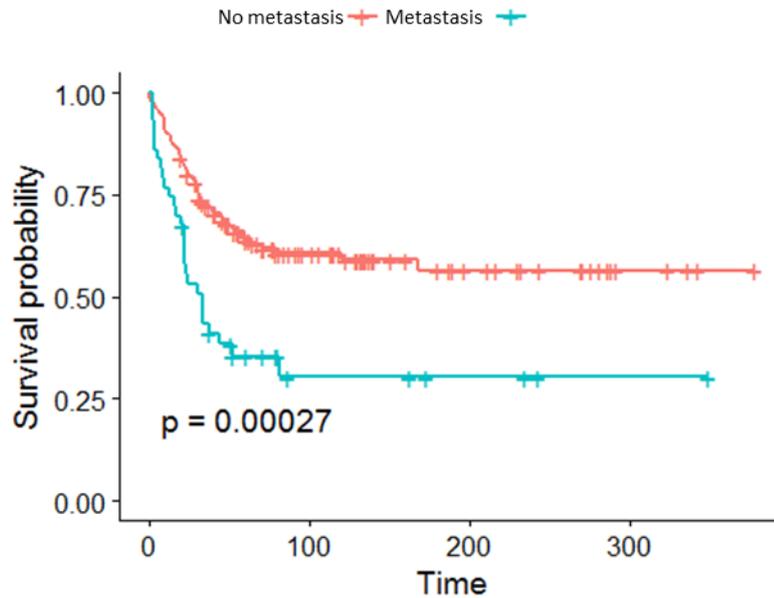
muerte que los pacientes M0. Los pacientes con estadio M3 presentan un riesgo 2.06 veces mayor de muerte que los pacientes M0.

**Tabla 33** Coeficientes del modelo estadístico de supervivencia para estadio M.

Estadio M	Hazard Ratio	Int. Conf. (95%)	p
<b>M1</b>	5.32	1.63-17.33	0.005
<b>M2</b>	2.41	1.09-5.35	0.029
<b>M3</b>	2.06	1.20-3.54	0.008



**Figura 36.** Curva de supervivencia por grado de diseminación de la enfermedad (M0-M4) del paciente.



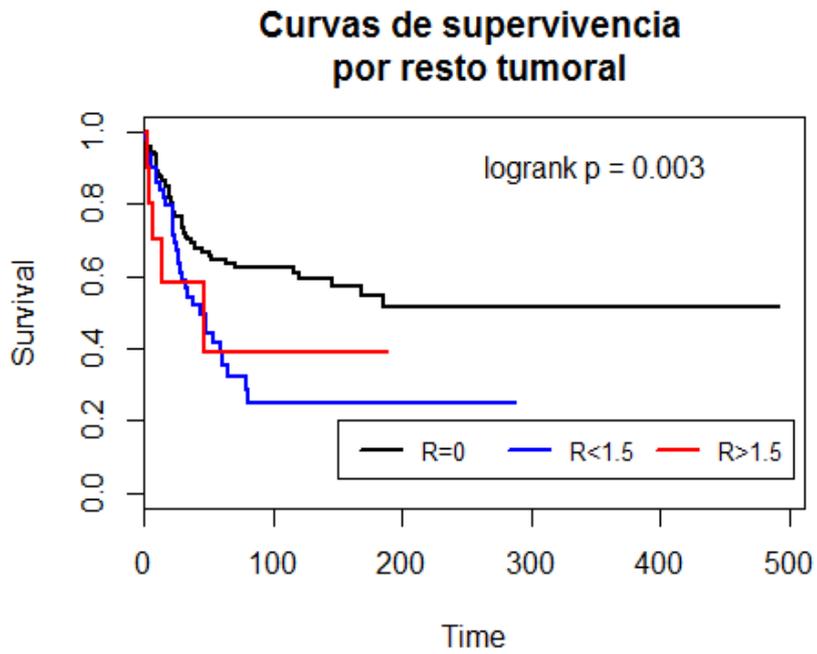
**Figura 37.** Curva de supervivencia por diseminación de la enfermedad (M) del paciente.

### 3.4- VARIABLE RESTO TUMORAL

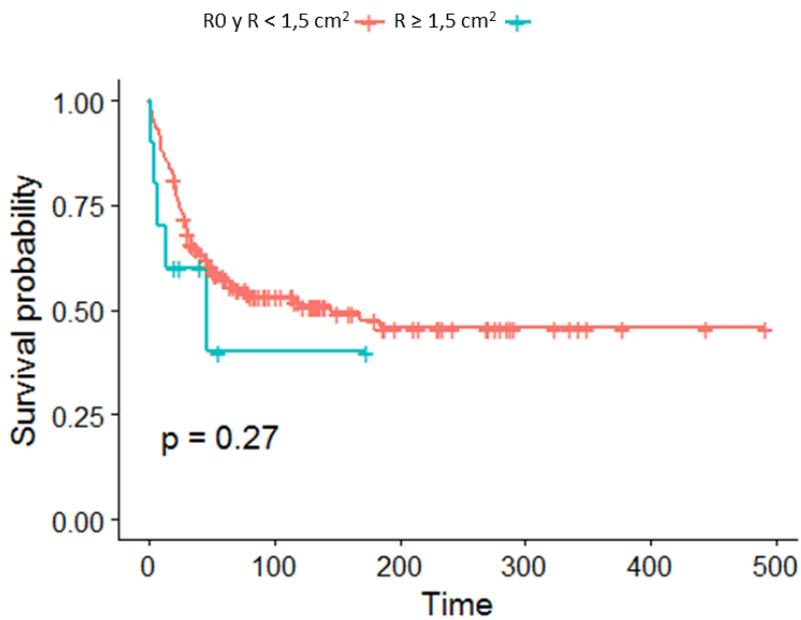
Considerando como variable de referencia R0, es decir, ausencia de resto tumoral tras la cirugía, se obtuvieron resultados estadísticamente significativos únicamente para el  $R < 1.5 \text{ cm}^2$ . Los pacientes con  $R < 1.5 \text{ cm}^2$  presentan un riesgo 2.05 veces mayor de muerte que los pacientes R0. Los pacientes con  $R \geq 1.5 \text{ cm}^2$  presentan un riesgo 2.09 veces mayor de muerte que los pacientes R0.

**Tabla 34.** Coeficientes del modelo estadístico de supervivencia para Resto tumoral (R).

Estadio R	Hazard Ratio	Int. Conf. (95%)	p
<b>R&lt;1.5</b>	2.05	1.31-3.22	0.001
<b>R≥1.5</b>	2.09	0.83-5.26	0.12



**Figura 38.** Curva de supervivencia por resto tumoral post-quirúrgico. R0= resección total, R<1.5= resección casi total con resto menor de 1.5 cm<sup>2</sup>, R>1.5= resección subtotal con resto igual o mayor de 1.5 cm<sup>2</sup>.



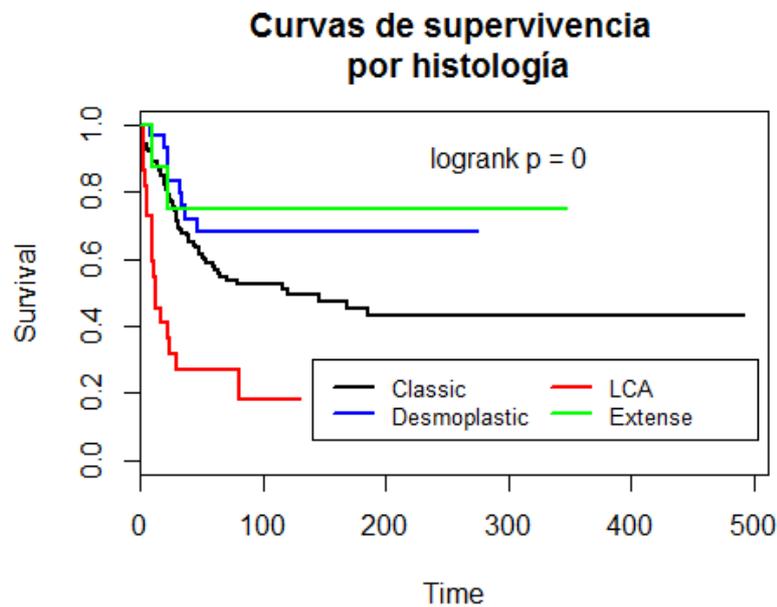
**Figura 39.** Curva de supervivencia por resto tumoral post-quirúrgico. R0 y R<1.5 cm<sup>2</sup>= resección total o casi total, R≥1.5 cm<sup>2</sup>= resección subtotal.

## 3.5- VARIABLE HISTOLOGÍA

Considerando como variable de referencia el tipo histológico clásico, se obtuvieron resultados estadísticamente significativos únicamente para el tipo LCA, presentando un riesgo 3 veces mayor. Los pacientes con tumores de tipo desmoplásico presentan un riesgo 0.42 veces menor de muerte que los pacientes de tipo clásico. Los pacientes con histología de nodularidad extensa presentan un riesgo 0.48 veces menor de muerte que los clásicos.

**Tabla 35.** Coeficientes del modelo estadístico de supervivencia para tipo histológico.

Histología	Hazard Ratio	Int. Conf. (95%)	p
<b>Desmoplásico</b>	0.58	0.29-1.17	0.13
<b>LCA</b>	3.09	1.79-5.34	0.00
<b>Nodularidad Extensa</b>	0.52	0.13-2.15	0.37



**Figura 40.** Curva de supervivencia por el tipo histológico del tumor.

3.6- VARIABLE TRATAMIENTO

Dada la dispersión de los tratamientos aplicados en los diferentes hospitales no se consideraron relevantes las interpretaciones de los riesgos relativos, aunque en alguno se obtuvo significación estadística.

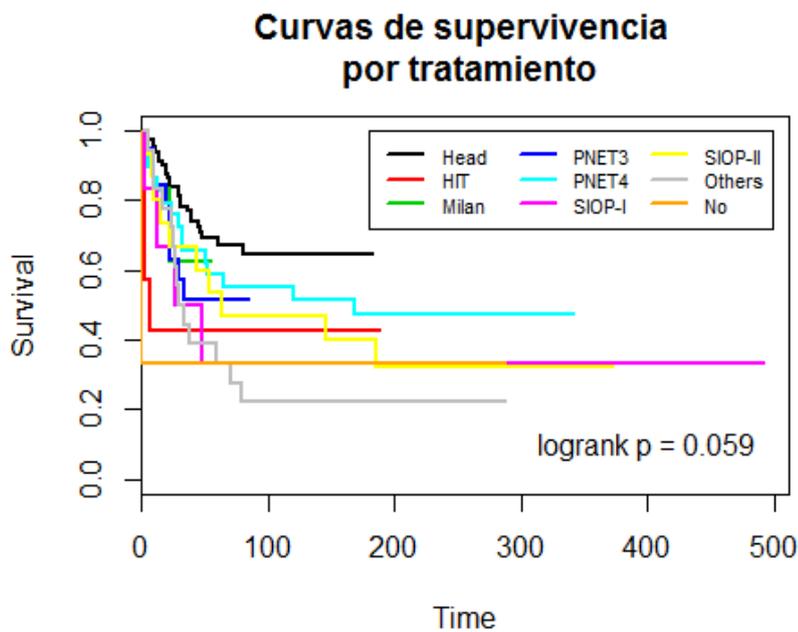


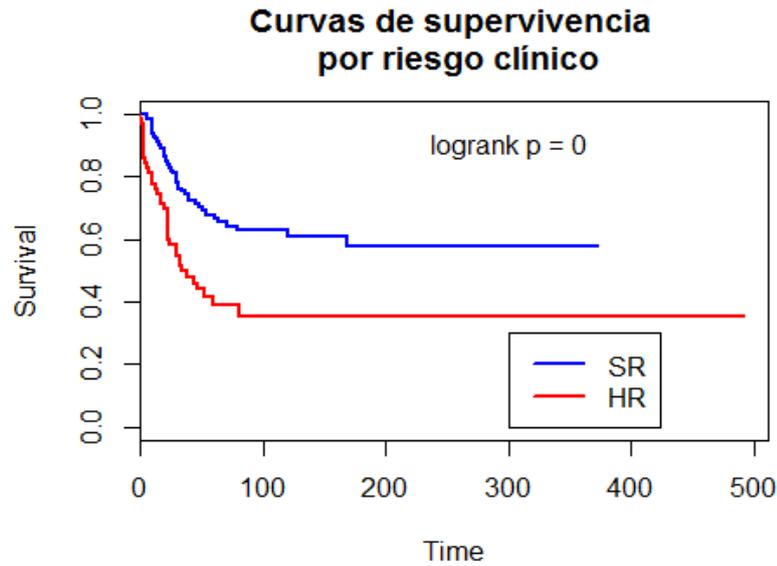
Figura 41. Curva de supervivencia por tipo de tratamiento.

3.7- VARIABLE RIESGO CLÍNICO

Se tomó como variable de referencia a los pacientes de riesgo estándar. Los pacientes con alto riesgo presentan un riesgo 2.26 veces mayor de probabilidad de muerte que los de riesgo estándar, resultando estadísticamente significativo. El coeficiente asociado al alto riesgo (HR) es de 2.26 con un intervalo de confianza del 95% de (1.44-3.55).

Tabla 36. Coeficientes del modelo estadístico de supervivencia para el riesgo clínico.

Riesgo clínico	Hazard Ratio	Int. Conf. (95%)	p
HR	2.26	1.44-3.55	0.00



**Figura 42.** Curva de supervivencia por riesgo clínico del paciente.

### 3.8- VARIABLE RIESGO BIOLÓGICO

Se tomó como variable de referencia a los pacientes de riesgo estándar. Los pacientes con alto riesgo presentan un riesgo 1.78 veces mayor de probabilidad de muerte que los de riesgo estándar, quedando muy próximo a la significación estadística. El coeficiente asociado al alto riesgo (HR) es de 1.78 con un intervalo de confianza del 95% de (0.98-3.23).

**Tabla 37.** Coeficientes del modelo estadístico de supervivencia para el riesgo biológico.

Riesgo biológico	Hazard Ratio	Int. Conf. (95%)	p
HR	1.78	0.98-3.23	0.06

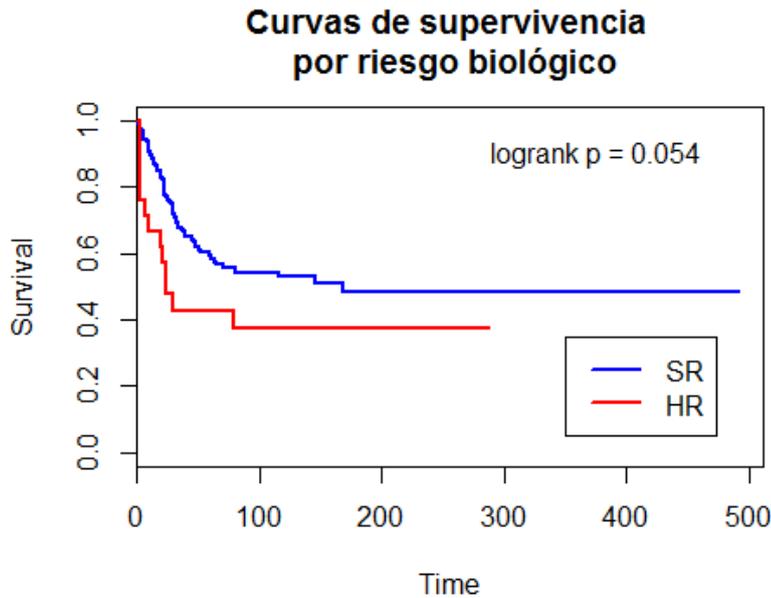


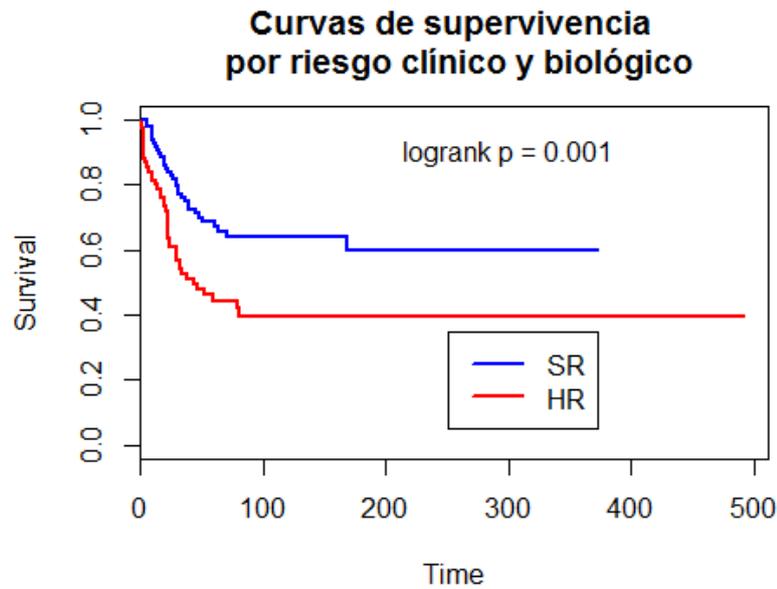
Figura 43. Curva de supervivencia por riesgo biológico del paciente.

### 3.9- VARIABLE RIESGO CLÍNICO Y BIOLÓGICO

Se tomó como variable de referencia a los pacientes de riesgo estándar. Los pacientes con alto riesgo presentan un riesgo 2.07 veces mayor de probabilidad de muerte que los de riesgo estándar, siendo este resultado estadísticamente significativo. El coeficiente asociado al alto riesgo (HR) es de 2.07 con un intervalo de confianza del 95% de (1.31-3.30).

Tabla 38. Coeficientes del modelo estadístico de supervivencia para el riesgo clínico y biológico.

Riesgo clínico biológico	Hazard Ratio	Int. Conf. (95%)	p
HR	2.07	1.31-3.30	0.001



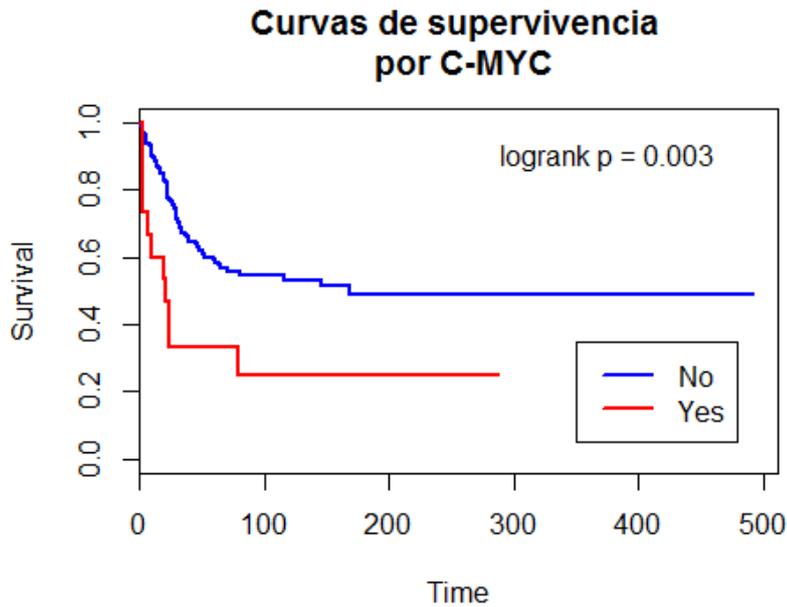
**Figura 44.** Curva de supervivencia por riesgo clínico y biológico del paciente.

### 3.10- VARIABLE MYCC

Se tomó como variable de referencia a los pacientes *MYCC* negativos. Los pacientes que presentaron amplificación del *MYCC* presentaron un riesgo 2.54 veces mayor de probabilidad de muerte que los que no amplificaron el *MYCC*, alcanzando la significación estadística. El coeficiente asociado al *MYCC* positivo es de 2.54 con un intervalo de confianza del 95% de (1.34-4.80).

**Tabla 39.** Coeficientes del modelo estadístico de supervivencia para la amplificación de *MYCC*.

<i>MYCC</i>	Hazard Ratio	Int. Conf. (95%)	p
YES	2.54	1.34-4.80	0.004



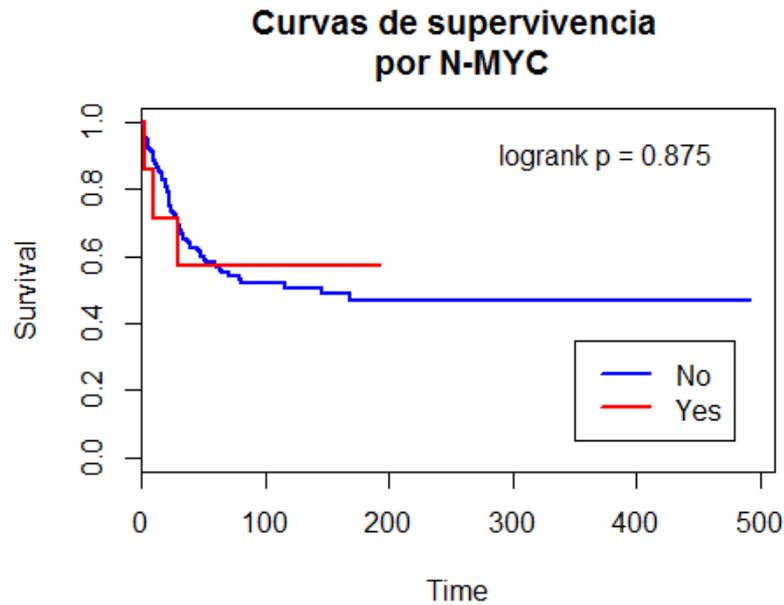
**Figura 45.** Curva de supervivencia por amplificación de MYCC.

### 3.11- VARIABLE MYCN

Se tomó como variable de referencia a los pacientes *MYCN* negativos. Los pacientes con amplificación del *MYCN* presentaron un riesgo 0.09 veces menor de probabilidad de muerte que los que no amplificaron el *MYCN*, sin alcanzar la significación estadística. El coeficiente asociado al *MYCN* positivo es de 0.91 con un intervalo de confianza del 95% de (0.29-2.90).

**Tabla 40.** Coeficientes del modelo estadístico de supervivencia para la amplificación de *MYCN*.

<i>MYCN</i>	Hazard Ratio	Int. Conf. (95%)	p
YES	0.91	0.29-2.90	0.875



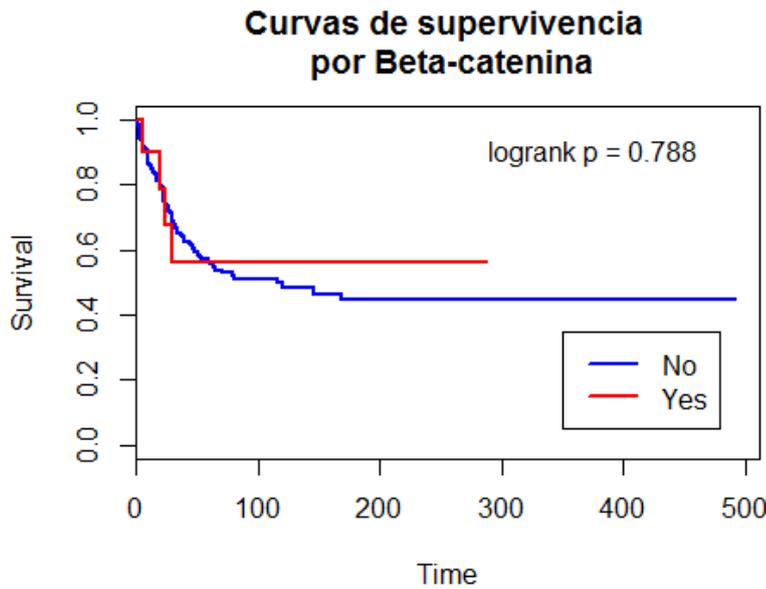
**Figura 46.** Curva de supervivencia por amplificación de *MYCN*.

### 3.12- VARIABLE $\beta$ -CATENINA

Se tomó como variable de referencia a los pacientes  $\beta$ -catenina negativos. Los pacientes que por inmunohistoquímica presentaron acumulación nuclear de  $\beta$ -catenina >10% de núcleos, presentaron un riesgo 0.13 veces menor de probabilidad de muerte que los que no la presentaron, y no alcanzan significación estadística. El coeficiente asociado a  $\beta$ -catenina positivo es de 0.87 con un intervalo de confianza del 95% de (0.32-2.38).

**Tabla 41.** Coeficientes del modelo estadístico de supervivencia para la expresión de  $\beta$ -catenina nuclear.

$\beta$ -catenina	Hazard Ratio	Int. Conf. (95%)	p
YES	0.87	0.32-2.38	0.788



**Figura 47.** Curva de supervivencia por expresión de  $\beta$ -catenina nuclear.

### 3.13- VARIABLE p53

Se tomó como variable de referencia a los pacientes p53 negativos. Los pacientes que por inmunohistoquímica presentaron expresión de p53 en más del 50% de células tumorales, presentaron un riesgo 0.72 veces menor de probabilidad de muerte que los negativos, aunque no se alcanza significación estadística. El coeficiente asociado a expresión positiva de p53 es de 0.28 con un intervalo de confianza del 95% de (0.56-1.75).

**Tabla 42.** Coeficientes del modelo estadístico de supervivencia para la expresión de p53.

p53	Hazard Ratio	Int. Conf. (95%)	p
<b>POSITIVO</b>	0.28	0.56-1.75	0.987

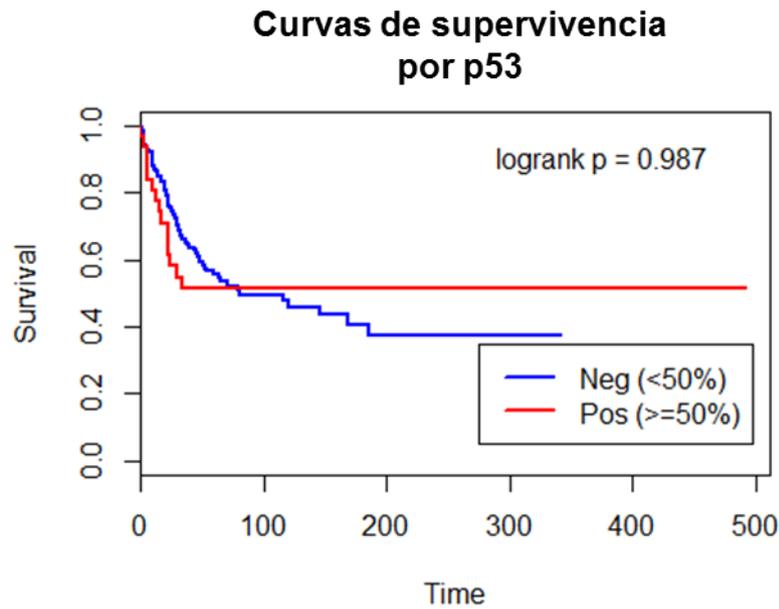


Figura 48. Curva de supervivencia por expresión de p53.

### 3.14- SUPERVIVENCIA GLOBAL A 5 Y 10 AÑOS POR VARIABLE

Tabla 43. Supervivencia global a 5 y 10 años tras el diagnóstico

Características	Supervivencia global		Valor de p
	5 años (IC 95%)	10 años (IC 95%)	
<b>Sexo (total 187)</b>			
Varón	52% (44-62%)	45% (37-56%)	0.236
Mujer	66% (55-79%)	59% (47-73%)	
<b>Estadio M (total 174)</b>			
Localizado (M0)	65% (57-74%)	59% (50-69%)	0.001
Metastásico (M1,M2,M3)	38% (27-53%)	29% (19-46%)	
M1	-	-	
M2	33% (12-91%)	-	
M3	38% (24-61%)	39% (24-61%)	
<b>Estadio R (total 184)</b>			
R0	58% (51-66%)	51% (43-60%)	0.003
Resto parcial	40% (18-85%)	40% (18-85%)	
R<1.5 cm2	40% (28-57%)	26% (15-46%)	
R>1.5 cm2	40% (15-100%)	40% (15-100%)	
<b>Histología (total 187)</b>			
Clásico	58% (50-67%)	50% (41-60%)	0.0001
Desmoplásico	68% (53-88%)	68% (53-88%)	
LCA	27% (14-54%)	18% (6-52%)	
Nodularidad Extensa	75% (50-100%)	75% (50-100%)	



## **V. DISCUSIÓN**



El meduloblastoma es el tumor cerebral maligno más frecuente en la edad pediátrica, con una incidencia anual de 15 casos en España<sup>3,9,16</sup>.

Es un ejemplo de enfermedad que se ha beneficiado de las nuevas técnicas de diagnóstico por imagen, en especial de la RMI, y de los avances en cirugía, RT y QT. A pesar de la terapia citotóxica aplicada en base a la estratificación por riesgo clínico del paciente, y lograr supervivencias globales a 5 años del 70-86% para niños con MB de riesgo estándar<sup>27,141,144</sup>, y tasas del 50-76% en pacientes de alto riesgo<sup>15</sup>, el ritmo en el aumento de la tasa de supervivencia se ha estancado en los últimos años.

Cuanto más avanza la investigación sobre el cáncer, éste se convierte en una enfermedad multifactorial y en su génesis intervienen los cambios en el ADN del individuo afectado, las características celulares del tumor y la manera de cada individuo de reaccionar al mismo por su propio sistema inmune. Actualmente la epigenética, el microambiente tumoral y la inmunidad propia contribuyen a que individuos con el mismo tumor reaccionen de forma diferente al tratamiento y presenten diferente supervivencia. Por todo ello el esfuerzo en la investigación relacionada con el cáncer debe continuar. Concretamente en el MB los estudios moleculares realizados recientemente han caracterizado diferentes marcas moleculares para este tumor, mostrando su potencial en el manejo clínico de estos pacientes<sup>201</sup>. La combinación de la evaluación clinicopatológica y los ensayos basados en los subgrupos moleculares permitirán estratificar a los pacientes en grupos de riesgo mejor definidos y dar un enfoque más adaptado a la terapia.

Nuestro interés era estudiar una muestra de pacientes pediátricos diagnosticados de meduloblastoma entre los años 1975 y 2015, en 23 hospitales nacionales. Con el objetivo de saber si conociendo el riesgo clínico de estos pacientes, podrían existir diferencias de interés pronóstico al sumarle los factores moleculares que se realizaron en las muestras obtenidas. Asimismo, valorar su impacto en la supervivencia global y en la supervivencia libre de eventos.

### **Limitaciones del estudio**

Aunque inicialmente se elaboró una base de datos muy amplia en variables clínicas epidemiológicas en los diferentes aspectos del diagnóstico y del tratamiento y posterior seguimiento de los niños, fuimos observando limitaciones en nuestro trabajo al analizar los resultados tanto en la fase descriptiva de las variables clínicas del estudio, como en la

fase del análisis histopatológico y molecular de las muestras tumorales obtenidas, y también en la fase de seguimiento de la supervivencia de los niños diagnosticados de MB.

Al inicio se contactó con todos los hospitales con unidades de Oncología pediátrica incluidos en el registro de tumores infantiles (RETI) de la Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátrica (SEHOP), pero no todos colaboraron por diferentes motivos. Los hospitales que participaron en envío de datos clínicos y muestras tumorales disponibles se detallan en la Tabla 9. Los argumentos expuestos por algunos profesionales para no participar en el estudio fueron sobre todo por falta de tiempo por la presión asistencial, y por dificultades en la búsqueda de la información clínica en las historias de los pacientes, además de las dificultades en la obtención del material tumoral desde los servicios de Anatomía Patológica.

La obtención de casos fue en gran parte retrospectiva, abarcando un periodo muy amplio en años, y con procedencia multicéntrica, lo que dificultó la obtención de todos los datos de cada uno de los sujetos previsibles de estudio. La edad, el sexo, la histología y las supervivencias fueron las características que se pudieron recoger en todos los casos, mientras que los datos de estadificación (estadios T y M de la Clasificación de Chang<sup>88</sup>), resto tumoral, y/o datos moleculares no se pudieron completar en 47 pacientes. Los datos moleculares incompletos en 22 pacientes fueron porque no se pudo recuperar el bloque de tejido tumoral parafinado para dichos estudios, y en otros 6 casos el tejido tumoral procedente de los bloques no estaba en condiciones óptimas, lo cual impidió sacar resultados.

Por ello, la creación de redes y bancos de tumores es fundamental para mejorar la disponibilidad y calidad de las muestras<sup>202</sup>.

### **Características clínicas e histopatológicas**

Las características epidemiológicas y clínicas, en rasgos generales, concuerdan con las observadas en la bibliografía revisada.

La edad media de nuestros pacientes es de 6.9 años, con un rango de 0 a 17 años, que coincide con la descrita por la mayoría de estudios<sup>3,6,203,204</sup>, donde además, al igual que en nuestra muestra se observa un pico de máxima incidencia entre los 5 y 9 años de edad de los pacientes y que se refleja en la Figura 17<sup>6,13</sup>. En otras cohortes estudiadas

igual que en la nuestra, alrededor del 70% de los casos son diagnosticados antes de los 10 años de edad<sup>21,87</sup>.

La relación varón:mujer de 1.7:1 hallada en nuestra serie también coincide con los ratios (de 1.2:1 a 2:1) descritos en la literatura<sup>3,18,38</sup>. Se destaca la ausencia de significación estadística obtenida ( $p=0.236$ ) en función del sexo, aunque con una tendencia en la supervivencia mejor para las mujeres que para los varones, que también coincide con las supervivencias descritas por otros autores<sup>27,29,30,205-207</sup>.

Aunque sujeta a modificaciones<sup>208</sup>, actualmente se sigue utilizando la Clasificación de Chang<sup>88</sup> para determinar la estadificación del meduloblastoma, pero se considera que el estadio T no tiene la misma importancia pronóstica que el estadio M, probablemente porque queda absorbido por el volumen tumoral extirpado<sup>34,209</sup>. Por lo que queda como un dato orientativo o complementario de otros factores pronóstico, bien clínicos o bien histopatológicos. En nuestra serie tuvimos dificultades para completar los datos de esta variable. Aun así, se obtuvieron escasos pacientes con tumores T1 y T4 (1.2% y 6.5% respectivamente), mientras que la mayoría se diagnosticaron como T3 (57.4%) y en menor número T2 (34.9%). La razón de la escasez de casos estadio T1, que corresponde a tumores muy pequeños, puede ser debida a, la ausencia de *screening* en niños por ser una enfermedad poco común, y a la falta de marcadores diagnóstico en estadios tempranos. Dado que el meduloblastoma es un tumor maligno con alto grado de progresión, es la enfermedad obstructiva que cursa con hipertensión intracraneal (náuseas, vómitos y cefaleas) la presente en los estadios T2 y T3. De igual manera, es muy raro el diagnóstico en estadio T4, que corresponde a 11 casos de nuestra serie, ya que la sintomatología aparece previamente por la hidrocefalia.

Respecto al estadio M, la mayoría de los pacientes del estudio presentan enfermedad localizada (M0) al diagnóstico (75.3%), mientras que el 24.6% restante son metastásicos, dato muy cercano al observado en otros estudios que hablan de un 30% de enfermos con diseminación al diagnóstico<sup>32,90,95,164</sup>. Por otro lado, está descrito que en el 30% de los meduloblastomas haya diseminación en el LCR<sup>210</sup>, pero entre los casos con metástasis de nuestro estudio únicamente tres correspondieron a estadio M1 al diagnóstico de manera aislada. Teniendo en cuenta que el LCR positivo solo se encuentra al comienzo de la enfermedad diseminada, y que la mayoría de casos metastásicos fueron M3 al diagnóstico, para valorar adecuadamente el estadio M en el meduloblastoma no basta el

estudio citológico del líquido cefalorraquídeo sin asociar los hallazgos de la RMI. Aunque la metástasis se asocia a un peor pronóstico en la mayoría de los casos, todavía no está muy claro el impacto que puede tener la presencia de células tumorales aisladas en el LCR sin metástasis macroscópicas<sup>111</sup>.

La diseminación prioritaria es dentro del neuroeje, y por eso, son raras las metástasis extraneurales, ausentes en nuestra serie, correspondientes al estadio M4.

Durante las últimas décadas la evaluación radiológica posterior a la intervención quirúrgica ha sustituido a la estimación del volumen tumoral extirpado por los cirujanos. En la actualidad es fundamental confirmar por medio de RMI la ausencia de resto tumoral o el tamaño del mismo tras la intervención. En nuestro estudio fue posible una resección total en el 68% de los pacientes, y entre los que se realizó una resección parcial, solo 10 pacientes presentaron un resto tumoral mayor de 1.5 cm<sup>2</sup>. Esto es debido a que los avances en cirugía e imagen han permitido a los cirujanos aumentar el grado de resección tumoral, con una menor morbilidad y una escasa mortalidad<sup>131</sup>. Existen estudios que demuestran que realizar segundas cirugías para disminuir el resto tumoral puede condicionar el tratamiento de los pacientes<sup>76,144</sup>.

Gracias a la colaboración de los patólogos de los diferentes hospitales reflejados en la Tabla 8, se obtuvieron las muestras de tejido tumoral de los pacientes del estudio. Se realizó una centralización de los casos en el servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Cruces, con el objetivo de comprobar la existencia de tejido tumoral válido para los análisis moleculares previstos en nuestro estudio y asimismo, validar el diagnóstico histológico de origen con criterios uniformes de WHO 2007<sup>211</sup>. Solo se encontraron 3 discrepancias respecto a la histología. Una vez descartados los casos no válidos por estas razones, los resultados obtenidos por subtipos histológicos coinciden con los descritos por otros autores<sup>3,67,201</sup>. Existe en nuestra serie un predominio claro del tipo clásico, observado en el 67.4% de los casos, porcentaje cercano al 70% referido en la última clasificación de la WHO y que se ha comprobado en otros estudios<sup>3,188,201</sup>. En la literatura, al igual que en nuestra serie, el subtipo clásico se describe en todas las franjas de edad, con un predominio entre los 5 y 9 años<sup>3</sup>. En segundo lugar, el subtipo desmoplásico representa al 16.6% de los casos en nuestra serie, frente al 5-25% descrito en la literatura revisada<sup>3,75,186,212,213</sup>. Esta gran diferencia pudiera explicarse al no separar los casos descritos como nodular/desmoplásico de los MBEN. En 2007, McManamy y

cols<sup>67</sup> publicaron la correlación de la variante desmoplásica con la edad, basándose en estudios de series inglesas (SIOP/UKCCSG PNET3 y SIOP UKCCSG CNS 9204), en las que la frecuencia de MB desmoplásico en pacientes <3 años era del 57%, y por el contrario, en pacientes >3 años era del 5-25%. También Garré y cols<sup>79</sup> en Italia, aportaron un 52% y un 15% para las mismas franjas de edad. En nuestra serie, del 16.6% de subtipo desmoplásico, la distribución al contrario que en otras series, observamos que un 27% de los desmoplásicos se da en menores de 5 años y un 73% en  $\geq 5$  años, sin que hayamos conseguido justificarlo.

La frecuencia del tipo célula grande/anaplásico, varía del 10% al 20% en la literatura revisada<sup>3,28,185,201</sup>. Así, lo observado en nuestra serie (11.8%) estaría dentro del mismo rango. En cuanto a la relación con la edad, está descrito que ocurre en cualquier franja de edad, y en nuestra serie se observa eso mismo, aunque los números sean escasos.

Finalmente, encontramos que el tipo de nodularidad extensa (4.3%) de nuestra serie podría estar infravalorado, ya que en las series antiguas no se describía, pero coincide con lo encontrado en la bibliografía revisada<sup>3,67,188,214</sup>. En su relación con la edad observamos en nuestro estudio que la mayor parte de los casos (6 casos de un total de 9) se presenta en los niños más pequeños, igual que describen otros autores<sup>79,215</sup>.

### **Características moleculares de la serie**

La inmunopositividad de  $\beta$ -catenina nuclear indica activación de la ruta de señalización WNT y está asociada con un mejor pronóstico. Se ha descrito que el 16-25% de todos los pacientes con meduloblastoma tienen una vía WNT alterada<sup>101,185,186</sup>. Estos casos se incluirían en el subgrupo MB<sub>WNT</sub> de la nueva clasificación de WHO<sup>3</sup>. En nuestra serie, observamos positividad en el 5.5% de los casos estudiados por inmunohistoquímica. En la valoración de los resultados de  $\beta$ -catenina se eliminaron aquellos casos en que la expresión no estaba presente en más del 10% de los núcleos de células tumorales analizados en la muestra<sup>100,104,186,216</sup>. Para ello nos basamos en los estándares establecidos recientemente por el grupo de trabajo de meduloblastomas de SIOP Europa, y cuya valoración estricta favorecía incluir los pacientes en los ensayos clínicos en curso. La distribución de los casos positivos de  $\beta$ -catenina por edad no aporta grandes diferencias en nuestra serie, al igual que describieron Clifford y cols<sup>186</sup> en el estudio PNET 4, donde los pacientes positivos para la expresión de  $\beta$ -catenina mostraron una edad

amplia de distribución. Por otro lado, aunque se ha observado que los tumores WNT ocurren igualmente en hombres que en mujeres<sup>174,187</sup>, en nuestro estudio sobre 10 casos positivos se observa un predominio de  $\beta$ -catenina en 8 mujeres y solo en 2 hombres, igualmente descrito por Cho y cols<sup>173</sup> en la cohorte americana estudiada, con un ratio hombre:mujer de 0.3 para el grupo WNT. De los 10 casos positivos en nuestra serie, 8 mostraron histología del tipo clásico, otros 2 casos fueron del tipo LCA y un solo caso de tipo desmoplásico. Esta distribución es parecida a la observada en otras series<sup>173,185,186</sup>, teniendo en cuenta que los tumores WNT son prácticamente todos de histología clásica<sup>173,174</sup>.

Diversos autores han constatado una asociación significativa entre la expresión nuclear inmunohistoquímica de p53 y un mal pronóstico en pacientes con meduloblastoma de riesgo estándar y PNET supratentoriales<sup>217-220</sup>. Eberhart y cols, en un estudio de tumores cerebrales embrionarios que incluyó 64 meduloblastomas, describió positividad para p53 en el 18% de los no anaplásicos, y en el 45% de los de tipo anaplásico (célula grande), asociándola a inferiores supervivencias<sup>217</sup>. También Mirabell y cols en 1999 describieron inmunoreactividad para p53 en el 27% de los meduloblastomas de su estudio, aunque en este caso no encontraron asociación con la supervivencia<sup>218</sup>. En nuestra serie hemos observado expresión IHQ de p53 en el 18.2% de los casos que se han podido analizar, aunque no hemos podido relacionarlo con características como el grado de anaplasia o de necrosis del tumor, que pudieran ser factores de riesgo añadido, por falta de dichos datos<sup>217,221</sup>. En cuanto a la edad, de 31 casos positivos de p53, el 90.3% pertenecen a pacientes menores de 10 años. Aunque esta relación entre la expresión positiva de p53 y la edad sea llamativa en nuestra cohorte, no hemos encontrado ningún otro estudio en meduloblastoma pediátrico que lo avale.

Los oncogenes *MYC* son los *locis* que más amplificados se encuentran en meduloblastomas, y han sido propuestos como marcadores de mal pronóstico por muchos autores<sup>70,71,123,222</sup>. En diferentes estudios publicados se constata que *MYCC* y *MYCN* se encuentran amplificados en el 10% de los meduloblastomas, la mayoría siendo tumores del tipo LCA<sup>72,81,82,123,223</sup>. En concreto, la amplificación de *MYCC* se ha determinado en un rango del 5% al 25% de tumores en estudios previos<sup>108,118,125,224</sup>. Mientras, en nuestra serie, la amplificación de *MYCC* (8.4%) y *MYCN* (4%) se ha observado en el 11.8% de los meduloblastomas, predominando en los tumores del tipo LCA y

también del tipo clásico. De acuerdo con los datos de otros estudios, en nuestra cohorte el mal pronóstico está más asociado al *MYCC* que al *MYCN*<sup>70,104,124</sup>. Respecto a la edad, en el caso de *MYCC* se ve una clara frecuencia en niños menores de 10 años, dato que también obtuvieron Scheurlen y cols en su trabajo, donde los pacientes con amplificación de *MYCC* eran menores de 8 años<sup>125</sup>. Por otro lado, la amplificación de *MYCN* es menos frecuente en nuestra serie, y es más dispersa por rango de edad.

### **Tratamientos del meduloblastoma**

Hemos considerado que, al pertenecer los pacientes a un periodo de estudio muy prolongado, en el que los tratamientos han sufrido modificaciones, y además, al no existir un tratamiento uniforme para el meduloblastoma en España, los diferentes hospitales que han facilitado los datos clínicos y las muestras de sus pacientes, han utilizado diferentes protocolos. Por lo tanto, la valoración de este apartado no se ha realizado.

### **Caracterización de la serie por riesgo**

Los diferentes trabajos y estudios revisados han tratado de hallar algún factor pronóstico entre las características clínicas, histopatológicas y moleculares para guiar el tratamiento del meduloblastoma pediátrico. Inicialmente fueron las características clínicas las consideradas en la estratificación de los pacientes en diferentes grupos de riesgo, después han sido complementadas por las características histopatológicas y en la actualidad, la inclusión de las características moleculares del tumor está siendo fundamental. Así, la combinación de estos tres grupos de características, permite una mejor estratificación del paciente por riesgo, y por consiguiente, optimizar la planificación del tratamiento.

Desde mediados de los 90, la valoración del riesgo en pacientes pediátricos con meduloblastoma se ha realizado estrictamente en base a tres parámetros clínicos; la edad del paciente al diagnóstico del tumor, la extensión de la enfermedad y el resto tumoral tras la cirugía<sup>30</sup>. De acuerdo con estos criterios, se consideran de riesgo estándar los pacientes mayores de 3 años de edad, sin enfermedad metastásica y con resección total o casi total (resto <1.5 cm<sup>2</sup>) del tumor. Por el contrario, los que no cumplen estos criterios se consideran de alto riesgo<sup>89</sup>. Teniendo en cuenta estos parámetros, en nuestra serie

cumplieron criterios de riesgo estándar el 63.8% de los pacientes, mientras que el 36.2% pertenecerían al grupo de alto riesgo.

El inconveniente de utilizar el riesgo clínico de forma aislada es, que pueden no ser identificados el 20-30% de casos de riesgo estándar resistentes al tratamiento y también aquellos en los que se administra tratamiento más intenso innecesariamente<sup>71</sup>. Además, estudios recientes han observado que los pacientes con meduloblastoma, a los que se les aplica la misma terapia, tienen diferentes grados de respuesta, debido principalmente a las diferencias histopatológicas y biológicas del tumor<sup>30,73,89</sup>. Por todo ello, utilizar exclusivamente las variables clínicas para determinar el riesgo de la enfermedad no es un método recomendable en la actualidad. Esto ha propiciado la búsqueda de nuevos marcadores para la estratificación del meduloblastoma, y en consecuencia que se hayan realizado tantos estudios en la última década<sup>18,65</sup>.

Por un lado, se ha demostrado que existen factores histopatológicos que determinan el resultado clínico de los pacientes pediátricos diagnosticados de meduloblastoma por su importancia pronóstica, como son el subtipo histológico, el grado de nodularidad y el grado de anaplasia<sup>58,64,67,69,73,75,214</sup>, pero los tumores muestran grados altamente variables de heterogeneidad, y el subtipado a través de la histopatología tradicional es especialmente difícil como también lo puede ser el análisis genético de biopsias aisladas<sup>225</sup>. En nuestro estudio, solo disponíamos de información del tipo histológico del tumor, que sumado a la dificultad mencionada, hizo que decidiéramos no incluir estos factores histopatológicos como determinantes del riesgo.

Por otro lado, la identificación de alteraciones genéticas y moleculares permite subagrupar los meduloblastomas con perfiles diferentes de comportamiento biológico y diferente resultado clínico<sup>71,80,174</sup>. En este caso, se han identificado marcadores biológicos tales como la amplificación de la familia de genes *MYC*, la pérdida del 17p/i(17)q, y la sobreexpresión del oncogén *ERBB2*, todos relacionados con un mal pronóstico<sup>108,109</sup>. Igualmente, la acumulación nuclear de  $\beta$ -catenina y monosomía del cromosoma 6, y la sobreexpresión de TrkC se han asociado a un buen pronóstico. Pero algunos de estos marcadores genómicos presentan baja penetrancia y modesta sensibilidad/especificidad. Por lo tanto, son limitados como marcadores pronósticos y no se utilizan habitualmente en la clínica para evaluar el riesgo, excepto en el caso de la amplificación de *MYCC* y la acumulación nuclear de  $\beta$ -catenina, ambos validados en más de 2 cohortes de estudio e

incluidos actualmente en los esquemas de estadificación de los ensayos clínicos abiertos<sup>15,104</sup>. Este nuevo esquema ha sido la base para el diseño del protocolo PNET 5<sup>15</sup>, del que hemos sido participes como miembros del grupo de trabajo de meduloblastomas de SIOP Europa, que actualmente está en fase de reclutamiento de pacientes, y además ha servido de orientación en este estudio para elegir los marcadores más idóneos de aplicación clínica a nivel nacional.

Así, la valoración del riesgo biológico en nuestra serie se basó en el análisis de tres marcadores: el *MYCC* y el *MYCN* para determinar el alto riesgo, y la  $\beta$ -catenina para determinar el riesgo estándar. En el 88.1% de los casos en los que se pudieron obtener los datos, el riesgo biológico fue estándar, mientras que en el 11.9% restante fue de alto riesgo.

El análisis combinado de la estratificación por riesgo clínico y biológico puede mejorar significativamente la eficacia de la gestión de los pacientes, permitiendo una identificación más precisa de estos y administrar terapias más reducidas en pacientes con menos riesgo, evitando así efectos secundarios innecesarios, y terapias más intensas en los de peor pronóstico<sup>222</sup>. Cuando asociamos los dos criterios de riesgo en nuestra serie, que pudo realizarse en el 90.4% del total de los pacientes, pudimos confirmar que existían diferencias, con un resultado de riesgo estándar en el 55.6% de los casos y un 44.4% de alto riesgo.

Concretamente observamos que los pacientes determinados como alto riesgo por criterios clínicos, que fueron 63 casos, no cambiaron de estatus a pesar de los resultados moleculares obtenidos, ya que cualquier factor clínico de alto riesgo confiere mal pronóstico al paciente pediátrico con meduloblastoma. Mientras que, en los 111 pacientes de riesgo estándar por criterios clínicos, hubo 12 casos que pasaron a ser de alto riesgo al sumarles los datos obtenidos en el análisis de la amplificación de *MYCC* y *MYCN*. Por consiguiente, el riesgo de estos pacientes estuvo infravalorado cuando se les estratificó por factores clínicos exclusivamente y se les aplicaron tratamientos no ajustados a su pronóstico, ya que 8 de estos pacientes recibieron tratamiento de protocolos SIOP PNET para riesgo estándar. De hecho 5 de estos 12 pacientes recayeron y murieron, y uno más recayó y sigue vivo sin enfermedad. Está descrito que entre el 20% y el 40% de pacientes sometidos a los criterios de riesgo clínico estándar actuales (enfermedad no metastásica y ningún tumor residual postoperatorio significativo)

presentan un elevado riesgo de recaída, ya que no suelen identificarse en el momento del diagnóstico como alto riesgo<sup>222</sup>.

Por otro lado, siendo la  $\beta$ -catenina nuclear positiva un marcador de buen pronóstico en meduloblastoma, en los nuevos protocolos se considera su utilización para detectar aquellos pacientes de riesgo estándar a los que este nuevo criterio confiere un riesgo aún más bajo, y por ello un tratamiento adyuvante menos intenso. En nuestro estudio solo obtuvimos positividad de  $\beta$ -catenina en 10 casos, que representan el 5.5% de nuestra serie, de los cuales 5 partían de un riesgo clínico y biológico estándar, que podrían definirse como tumores del subgrupo MB<sub>WNT</sub> con perfil de bajo riesgo y ser candidatos potenciales a recibir menos radioterapia respecto a los protocolos estándar (SIOP PNET), teniendo en cuenta que 4 de los 5 pacientes siguen vivos en la actualidad. Otros 4 casos  $\beta$ -catenina positivos y con ambos criterios de riesgo tanto clínico como biológico alto, aunque tenían la vía WNT activada, no les benefició. A pesar del tratamiento de alto riesgo recibido, 3 de ellos recayeron y 2 murieron. El efecto beneficioso de la expresión nuclear de  $\beta$ -catenina no se pudo estudiar en uno de los pacientes por datos incompletos de riesgo clínico. Clifford y cols en un estudio retrospectivo realizado en la cohorte del ensayo PNET 4 confirmaron estos efectos<sup>186</sup>.

### **Supervivencia de la serie**

En nuestra serie, hemos descrito una supervivencia global a 5 años del 57% y a los 10 años del 50%. Aunque pueden parecer unos resultados pobres en comparación con los obtenidos en otros estudios multicéntricos y aleatorizados, que hallan una supervivencia global a los 5 años del 70-85%<sup>26-28,144</sup> para los pacientes de bajo riesgo y del 30-70%<sup>29,30,33,35,135</sup> para los pacientes de alto riesgo, son valores similares a los descritos en series que habían incluido pacientes pertenecientes a varios grupos de riesgo y que habían recibido diferentes regímenes de tratamiento como en nuestro caso<sup>31,95,204,206,226</sup>. En España el RETI da un 55% de supervivencia a 5 años del meduloblastoma, según se observa en la última cohorte analizada de 2009 y como figura en la Tabla 3<sup>9</sup>. Si cogemos como referencia diferentes registros de tumores infantiles internacionales la supervivencia a 5 años para el SEER es del 69-71%<sup>203,227</sup>, en Canadá y en el registro de cáncer infantil alemán del 69%<sup>98,228</sup>, y en el registro nacional de tumores infantiles de UK

la supervivencia a 5 años del meduloblastoma infantil en menores de 15 años es del 65%<sup>227</sup>.

Las diferencias en la supervivencia entre los datos de registros internacionales y nuestros datos, pueden en parte ser explicadas porque los estudios de supervivencia en cáncer infantil son todavía escasos e incompletos en nuestro país, y más aún para los diferentes tipos histológicos, como sucede en el MB. Una manera de medir los datos de supervivencia son los registros poblacionales de cáncer, y aunque en nuestro caso el RETI aporta datos desde su creación en 1980, es un registro hospitalario y no poblacional. Asimismo, en nuestro país la edad pediátrica finaliza a los 14 años en ambulatorios y centros de salud, y a los 18 años en las unidades de oncología pediátrica de los grandes hospitales<sup>229</sup>. Por ello faltan datos de seguimiento del paciente oncológico dado que no existen consultas de transición al adulto. Otro sesgo es debido a que habrá casos pertenecientes a clínicas privadas o que fallecieron antes de ser diagnosticados, y por lo tanto no registrados.

Estas reflexiones se observan en las estadísticas de mortalidad infantil por cáncer en todo el mundo<sup>230</sup>.

En nuestra serie la supervivencia libre de eventos a 5 y 10 años es del 60% y del 50% respectivamente, con un tiempo medio de supervivencia libre de eventos de 76.2 meses transcurridos desde el diagnóstico.

Se ha observado en los ensayos clínicos llevados a cabo que aproximadamente un 30%-40% de los pacientes con meduloblastoma recaen<sup>28,141,231,232</sup>, en nuestra serie las recaídas ocurren en un porcentaje similar (43.8%). De los 89 pacientes fallecidos a lo largo del estudio, 72 de ellos habían recaído al menos una vez. Entre los pacientes que han recaído en nuestra serie un 12% sobreviven al término de este estudio, porcentaje muy parecido al 10% descrito por otros autores<sup>233-235</sup>.

En nuestra serie la mayoría de los niños que recaen son menores de 10 años, y recaen dentro del primer año tras el diagnóstico. Algunos autores describen tiempos medios desde el diagnóstico a la recaída un poco más altos<sup>231,236-239</sup>.

No pudimos obtener el patrón de recaída en nuestra cohorte de manera satisfactoria, pero está descrito que en el caso del meduloblastoma el patrón es variable<sup>231</sup>.

La recurrencia del meduloblastomas es fatal, excepto en contados casos de recaída local tributaria de cirugía y en tumores no radiados previamente. A pesar de los avances

en el tratamiento con nuevas drogas y modalidades de RT, todavía no hay una terapia estándar aplicable a los pacientes en recaída después del tratamiento con RT y QT inicial.

### **Supervivencia global por factores pronóstico**

El sexo es un factor pronóstico muy debatido en series pediátricas diagnosticadas de meduloblastoma. Algunos estudios epidemiológicos muestran que el sexo masculino es un factor de riesgo independientemente de la edad, raza y país, y representa aproximadamente un 65% de los pacientes. Pero otros autores han observado que el género femenino tiene una mejor supervivencia con significación estadística<sup>207</sup>. En la línea de estos hallazgos, las niñas de nuestro estudio presentan un 24% de probabilidad menor de exitus que los niños. Aun así, el sexo no es una variable con significación estadística como factor aislado ( $p=0.236$ ) en la supervivencia de los pacientes de este estudio, además se puede observar que los eventos ocurren en proporción parecida independientemente del género. En este estudio la supervivencia global a 5 y 10 años es mejor para las mujeres (66% y 59%) que para los varones (52% y 56%), y coincide con la mayoría de supervivencias descritas en la literatura<sup>27,29-31,205,206,240</sup>.

Se decidió dividir la variable edad en 4 rangos (0-4, 5-9, 10-14 y 15-17) debido a lo observado en otros estudios<sup>38</sup> y a los rangos utilizados en los estudios poblacionales y hospitalarios más conocidos (por ejemplo, SEER y el RETI)<sup>9,25</sup>. La relación entre la edad y la evolución de la enfermedad tumoral en niños no es lineal, observándose en los extremos de la distribución de la edad, es decir, infancia y edad adulta, peor evolución que en los pacientes de edad intermedia. Está descrito que los pacientes más jóvenes en el momento del diagnóstico presentan un impacto negativo en la supervivencia a largo plazo, y en la calidad de vida cuando sobreviven<sup>92,241</sup>. En una serie estudiada por Zeltzer y cols<sup>30</sup>, se demostró que los niños menores de 5 años con meduloblastoma, y en concreto aquellos menores de 3 años, tenían un pronóstico significativamente peor. En este caso la supervivencia libre de progresión era del 32% entre los niños de 1.5 y 3 años de edad, frente al 58% de los niños de 3 años o mayores. En nuestra serie en cambio, no se observó ningún efecto significativo de la edad en la supervivencia global de los pacientes ( $p=0.079$ ). Podría ser debido a, que en los últimos años las nuevas tecnologías permiten un diagnóstico precoz y se diseñan los protocolos de tratamiento por la edad del niño, por

lo tanto, disminuye la morbilidad encontrada en los protocolos anteriores, sobre todo para los casos de mejor pronóstico.

Uno de los factores clínicos con mayor influencia en el pronóstico es el estadiaje M. Al igual que en la mayoría de los trabajos publicados<sup>31,205,206,240</sup>, la supervivencia global de los pacientes de nuestra serie mantiene la significación estadística ( $p=0.001$ ) en el análisis bivariante, con una supervivencia global a los 5 años y 10 años del 65% y 59% para los tumores localizados, y 35% y 30% para los metastásicos. Destaca una mejor supervivencia global a 5 años en el caso de enfermedad metastásica estadio M3 (39%) frente a los pacientes M2 (33%), ya que los M3 presentan un riesgo algo menor de muerte. En la bibliografía revisada no se observa una diferencia significativa entre los pacientes M2 y los M3<sup>28,31,32,95,242</sup>. De hecho, un estudio prospectivo del grupo francés (SFOP) con pacientes de alto riesgo mayores de 3 años, consideraron la enfermedad metastásica como M2/M3 y observaron para estos pacientes una SLE a 5 años del 43.1%, también comparable con el 40% observado en el estudio americano CCG921, el 40% del estudio alemán HIT'91 y algo menos en el europeo PNET 3 con 34.7%, que es más parecido al obtenido en nuestro estudio<sup>29,30,32,242</sup>. Por otro lado, los pacientes M1 del estudio son poco frecuentes y tienen una supervivencia muy corta, falleciendo los 3 casos antes de los 3 años tras el diagnóstico. Aunque en nuestro estudio hemos considerado el estadio M1 como enfermedad metastásica, al igual que otros autores<sup>30,242</sup>, en la literatura revisada no está claramente definido, ya que hay otros grupos que excluyen los pacientes M1 del grupo de alto riesgo<sup>29,95,243</sup>. En nuestro caso queda justificado, por la fatal evolución de los pacientes con estadio M1, que la enfermedad diseminada en cualquiera de sus grados, se clasifica como alto riesgo y se asocia a un peor pronóstico.

Durante las últimas décadas la evaluación radiológica posterior a la intervención quirúrgica se ha ido estableciendo en sustitución a la visión del cirujano para estimar el volumen tumoral extirpado. En nuestro trabajo se ha definido la resección total del tumor como la extirpación completa del tumor según el parte quirúrgico y la ausencia de restos tumorales en la resonancia magnética posterior a la intervención. Con esta definición, la significación estadística hallada en el análisis bivariante ( $p=0.003$ ) indica que el resto tumoral es un factor pronóstico independiente. Resultado también validado en el estudio prospectivo a nivel europeo HIT-SIOP-PNET 4<sup>186</sup> y previamente en los estudios de los grupos americanos COG y CCG<sup>30,141</sup>, por lo que se sigue considerando a los pacientes con

resto tumoral (R+) tras la cirugía como de alto riesgo<sup>15</sup>. Concretamente se habla de peor pronóstico en los pacientes con resto  $>1.5 \text{ cm}^2$ , con supervivencias libres de progresión a 5 años del 74% para resecciones mayores del 90% y del 56% para los que tienen mayor resto tumoral<sup>30</sup>. En nuestra serie, el riesgo de morir para los pacientes con resto tumoral  $<1.5 \text{ cm}^2$  y  $>1.5 \text{ cm}^2$ , solo es significativo ( $p=0.001$ ) en el caso de la resección casi total. Esto puede ser debido a que el número de pacientes con resto  $>1.5 \text{ cm}^2$  es muy pequeño y por ello el intervalo de confianza es más amplio y es menos significativo.

Por otro lado, siguiendo los criterios del actual ensayo PNET 5 para meduloblastomas de riesgo estándar, donde los pacientes sin resto tumoral o resección casi total son elegibles, al agrupar estos casos de nuestra cohorte frente a los que tienen un resto  $>1.5 \text{ cm}^2$ , el resto tumoral pierde significancia como factor independiente del pronóstico ( $p=0.27$ ).

En la actualidad el objetivo de la resección quirúrgica en pacientes pediátricos con meduloblastoma, mayores de 3 años de edad y sin metástasis, es conseguir un residuo post-operatorio menor de  $1.5 \text{ cm}^2$ . Por ello se recomiendan segundas cirugías para conseguirlo. Un estudio reciente en 787 pacientes con meduloblastoma, incluye la biología molecular y valora el impacto del resto quirúrgico en la supervivencia, concluyendo que no existe una asociación definitiva entre la extensión de la resección y la supervivencia global en los casos estratificados para el tratamiento según sus características biológicas de riesgo<sup>98</sup>. Esto puede permitir en un futuro a los neurocirujanos realizar cirugías más seguras sin llegar a ser agresivos en los tumores que no son factibles de resección total, y evitar secuelas neurológicas significativas. De todas formas, el *standard of care* continúa siendo “a mayor resección, mejor supervivencia”.

En cuanto al impacto de la histología en la supervivencia global de los niños con meduloblastoma de nuestro estudio observamos significación estadística ( $p<0.0001$ ). Con un mejor resultado para los meduloblastomas desmoplásicos y de nodularidad extensa (MBEN) que para los tipos clásico y LCA. En estudios previos también han observado que los meduloblastomas desmoplásicos y los MBEN tienen mejor supervivencia, ya que la desmoplasia y el grado de nodularidad no se consideran factores asociados<sup>95,214,243</sup>. Así, en nuestros pacientes, los subtipos histológicos desmoplásico y MBEN presentan menor riesgo de muerte, con una supervivencia global del 68% y del 75% respectivamente, y que no sufre modificaciones a los 5 y 10 años del diagnóstico. En cambio, el subtipo LCA

presenta un riesgo de morir 3 veces mayor que el tipo clásico y resulta estadísticamente significativo, con una supervivencia global a 5 y 10 años del 27% y 18% respectivamente. Las distintas características morfológicas del meduloblastoma de células grandes y su asociación con el comportamiento clínico agresivo fueron descritas por primera vez por Giangaspero y cols. A partir de entonces muchos estudios han confirmado que los meduloblastomas de tipo LCA son una variante agresiva caracterizados frecuentemente por diseminación en LCR, y asociados a un mal pronóstico (Brown 2000, Eberhart 2002, McManamy 2003, Leonard 2001, Gilbertson 2008, Lamont 2004, Ellison 2011).

Desarrollar una estratificación terapéutica práctica permite identificar y determinar el riesgo de la enfermedad, así la terapia adyuvante puede individualizarse y los efectos adversos pueden minimizarse. Los factores clínicos e histológicos de nuestra serie son los que han determinado el riesgo clínico de cada paciente. Los pacientes con riesgo clínico estándar, definidos como meduloblastomas R0/M0 en pacientes mayores de 3 años, han presentado una supervivencia global a 5 y 10 años de 68% y 62% respectivamente. Mientras que en los de riesgo clínico alto (Resto tumoral y/o M1-M3 y/o pacientes menores de 3 años) hemos observado un 40% y un 36% para los mismos cortes de seguimiento tras el diagnóstico, y se ha observado un riesgo mayor de probabilidad de morir respecto a los de riesgo clínico estándar ( $p=0.00$ )

En la enfermedad de riesgo estándar, que es la base de los ensayos clínicos actuales, el uso de diferentes biomarcadores y nuevos modelos de supervivencia permite la mejora en la estratificación del riesgo. Así, en nuestro estudio sumamos el riesgo biológico determinado por el análisis de los marcadores moleculares al riesgo clínico, y el 6% de los pacientes cambiaron su riesgo inicial. En estos casos el riesgo clínico inicial estándar paso a ser riesgo clínico y biológico de alto riesgo, lo cual supone un riesgo mayor de probabilidad de muerte, con una supervivencia a 5 y 10 años del 45% y 40%. En esta nueva estratificación por riesgo, a 8 de los 12 pacientes a los que les cambiaba el riesgo se les administró tratamiento para pacientes con riesgo estándar (PNET 3 y PNET 4) y es probable que actualmente se les hubiera tratado con protocolos más agresivos. El 42% de los pacientes infratratados están muertos.

A medida que los nuevos conocimientos de biología molecular de los tumores cerebrales se obtengan partiendo de estudios prospectivos de amplias cohortes en ensayos multicéntricos (Grupo de estudio del Cáncer Infantil, Grupo de Oncología

Pediátrica, Sociedad para la Oncología y Hematología Pediátrica, etc.) y, por lo tanto, puedan trasladarse sus resultados, así como su aplicación al campo de la clínica, surgirán nuevas clasificaciones de los tumores cerebrales de acuerdo con sus características genéticas, incorporadas a las ya descritas, histológicas, inmunohistoquímicas ultraestructurales, biológicas y radiológicas, que posiblemente permitirán una mayor precisión a la hora de definir entidades, orientar el pronóstico y determinar tratamientos específicos dentro de una misma categoría diagnóstica, evitando terapias neurotóxicas en tumores con factores pronósticos favorables.

## **VI. CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES

---

1.- Se ha conseguido la centralización de datos y muestras de pacientes pediátricos con meduloblastoma en un estudio multicéntrico, gracias a la colaboración de las Unidades de Oncología Pediátrica y de los servicios de Anatomía Patológica de los hospitales de la red nacional.

2.- A pesar de la amplitud del periodo de estudio, se han uniformizado criterios en los aspectos clínicos e histológicos en un porcentaje superior al 82% de las muestras remitidas. Se encontraron solo 3 discrepancias en el estudio centralizado.

3.- Tras la puesta a punto de los estudios moleculares del meduloblastoma, al añadir los criterios moleculares obtenidos, observamos que el riesgo estándar inicial se modificó negativamente en un 6% de los pacientes incluidos. Que potencialmente hubieran sido candidatos a tratamientos de alto riesgo.

4.- De las características clínicas y moleculares analizadas, resultaron factores pronósticos independientes el tamaño del resto tumoral, la presencia de metástasis y la amplificación del gen *MYCC*. Resultados que son equiparables a los obtenidos por otros grupos utilizando los mismos parámetros.

5.- Se observó peor supervivencia global en los pacientes con resto tumoral y en los pacientes con enfermedad diseminada al diagnóstico.

6.- Analizando la supervivencia y los resultados del estudio molecular de 15 pacientes con *MYCC* positivo, 7 eran de bajo riesgo clínico y murieron 5, por otra parte 8 de alto riesgo clínico y murieron 7 pacientes. Se concluye que la amplificación del *MYCC* es un marcador de mal pronóstico.

7.- La supervivencia de los pacientes de nuestra serie, al compararla con los datos del RETI-SEHOP y los datos de otros estudios, valida nuestra serie como una muestra representativa de la población pediátrica con meduloblastoma.



## **VII. BIBLIOGRAFÍA**



1. Fossati P, Ricardi U, Orecchia R. Pediatric medulloblastoma: toxicity of current treatment and potential role of protontherapy. *Cancer Treat Rev.* 2009;35(1):79-96.
2. Bailey P, Cushing H. Medulloblastoma cerebelli, common type of midcerebellar glioma of childhood. *Archives of Neurology and Psychiatry.* 1925;14(2):192-224.
3. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016;131(6):803-820.
4. Packer RJ, Vezina G. Management of and prognosis with medulloblastoma: therapy at a crossroads. *Arch Neurol.* 2008;65(11):1419-1424.
5. Parkin DM, Kramárová E, Draper G, et al. *International Incidence of Childhood Cancer. IARC Scientific Publications No 144. International Agency for Research on Cancer: Lyon.* 1998.
6. Kaatsch P. Epidemiology of childhood cancer. *Cancer Treat Rev.* 2010;36(4):277-285.
7. Steliarova-Foucher E, Colombet M, Ries LAG, et al. International incidence of childhood cancer, 2001-10: a population-based registry study. *Lancet Oncol.* 2017.
8. Peris-Bonet R, Salmerón D, Martínez-Beneito MA, et al. Childhood cancer incidence and survival in Spain. *Ann Oncol.* 2010;21 Suppl 3:103-110.
9. Peris Bonet R, Pardo Romaguera E, Muñoz Lopez A, Sayas Sanchez N, Valero Poveda S. *Cáncer Infantil en España. Estadística 1980-2015. Registro Español de Tumores Infantiles (RETI-SEHOP). Valencia.* 2016.
10. Steliarova-Foucher E, Stiller C, Kaatsch P, et al. Geographical patterns and time trends of cancer incidence and survival among children and adolescents in Europe since the 1970s (the ACCISproject): an epidemiological study. *Lancet.* 2004;364(9451):2097-2105.
11. Peris-Bonet R, Martínez-García C, Lacour B, et al. Childhood central nervous system tumours--incidence and survival in Europe (1978-1997): report from Automated Childhood Cancer Information System project. *Eur J Cancer.* 2006;42(13):2064-2080.
12. Bishop AJ, McDonald MW, Chang AL, Esiashvili N. Infant brain tumors: incidence, survival, and the role of radiation based on Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Data. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;82(1):341-347.
13. McNeil DE, Coté TR, Clegg L, Rorke LB. Incidence and trends in pediatric malignancies medulloblastoma/primitive neuroectodermal tumor: a SEER update. *Surveillance Epidemiology and End Results. Med Pediatr Oncol.* 2002;39(3):190-194.
14. Smoll NR, Drummond KJ. The incidence of medulloblastomas and primitive neuroectodermal tumours in adults and children. *J Clin Neurosci.* 2012;19(11):1541-1544.
15. Pizer BL, Clifford SC. The potential impact of tumour biology on improved clinical practice for medulloblastoma: progress towards biologically driven clinical trials. *Br J Neurosurg.* 2009;23(4):364-375.
16. Parsons DW, Li M, Zhang X, et al. The genetic landscape of the childhood cancer medulloblastoma. *Science.* 2011;331(6016):435-439.
17. Martínez León MI. [Review and update about medulloblastoma in children]. *Radiología.* 2011;53(2):134-145.

18. Crawford JR, MacDonald TJ, Packer RJ. Medulloblastoma in childhood: new biological advances. *Lancet Neurol.* 2007;6(12):1073-1085.
19. Packer RJ, Cogen P, Vezina G, Rorke LB. Medulloblastoma: clinical and biologic aspects. *Neuro Oncol.* 1999;1(3):232-250.
20. Navajas A, Peris Bonet R. Tumores de la infancia: consideraciones epidemiológicas y terapéuticas. *JANO.* 2007;1668:29-37.
21. Roberts RO, Lynch CF, Jones MP, Hart MN. Medulloblastoma: a population-based study of 532 cases. *J Neuropathol Exp Neurol.* 1991;50(2):134-144.
22. Kieran MW, Walker D, Frappaz D, Prados M. Brain tumors: from childhood through adolescence into adulthood. *J Clin Oncol.* 2010;28(32):4783-4789.
23. Society AC. Cancer Facts and Figures 2016. In: <http://www.cancer.org/acs/groups/content/@research/documents/document/acspc-047079.pdf>; 2016.
24. Sankila R, Martos Jiménez MC, Miljus D, Pritchard-Jones K, Steliarova-Foucher E, Stiller C. Geographical comparison of cancer survival in European children (1988-1997): report from the Automated Childhood Cancer Information System project. *Eur J Cancer.* 2006;42(13):1972-1980.
25. Howlader N, Noone A, Krapcho M, et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2010, National Cancer Institute. 2012; Bethesda, MD:[http://seer.cancer.gov/csr/1975\\_2010/](http://seer.cancer.gov/csr/1975_2010/).
26. Packer RJ, Goldwein J, Nicholson HS, et al. Treatment of children with medulloblastomas with reduced-dose craniospinal radiation therapy and adjuvant chemotherapy: A Children's Cancer Group Study. *J Clin Oncol.* 1999;17(7):2127-2136.
27. Taylor RE, Bailey CC, Robinson K, et al. Results of a randomized study of preradiation chemotherapy versus radiotherapy alone for nonmetastatic medulloblastoma: The International Society of Paediatric Oncology/United Kingdom Children's Cancer Study Group PNET-3 Study. *J Clin Oncol.* 2003;21(8):1581-1591.
28. Gajjar A, Chintagumpala M, Ashley D, et al. Risk-adapted craniospinal radiotherapy followed by high-dose chemotherapy and stem-cell rescue in children with newly diagnosed medulloblastoma (St Jude Medulloblastoma-96): long-term results from a prospective, multicentre trial. *Lancet Oncol.* 2006;7(10):813-820.
29. Kortmann RD, Köhl J, Timmermann B, et al. Postoperative neoadjuvant chemotherapy before radiotherapy as compared to immediate radiotherapy followed by maintenance chemotherapy in the treatment of medulloblastoma in childhood: results of the German prospective randomized trial HIT '91. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;46(2):269-279.
30. Zeltzer PM, Boyett JM, Finlay JL, et al. Metastasis stage, adjuvant treatment, and residual tumor are prognostic factors for medulloblastoma in children: conclusions from the Children's Cancer Group 921 randomized phase III study. *J Clin Oncol.* 1999;17(3):832-845.
31. Evans AE, Jenkin RD, Sposto R, et al. The treatment of medulloblastoma. Results of a prospective randomized trial of radiation therapy with and without CCNU, vincristine, and prednisone. *J Neurosurg.* 1990;72(4):572-582.

32. Taylor RE, Bailey CC, Robinson KJ, et al. Outcome for patients with metastatic (M2-3) medulloblastoma treated with SIOP/UKCCSG PNET-3 chemotherapy. *Eur J Cancer*. 2005;41(5):727-734.
33. Tarbell NJ, Friedman H, Polkinghorn WR, et al. High-risk medulloblastoma: a pediatric oncology group randomized trial of chemotherapy before or after radiation therapy (POG 9031). *J Clin Oncol*. 2013;31(23):2936-2941.
34. Packer RJ, Sutton LN, Elterman R, et al. Outcome for children with medulloblastoma treated with radiation and cisplatin, CCNU, and vincristine chemotherapy. *J Neurosurg*. 1994;81(5):690-698.
35. Gandola L, Massimino M, Cefalo G, et al. Hyperfractionated accelerated radiotherapy in the Milan strategy for metastatic medulloblastoma. *J Clin Oncol*. 2009;27(4):566-571.
36. Coluccia D, Figueredo C, Isik S, Smith C, Rutka JT. Medulloblastoma: Tumor Biology and Relevance to Treatment and Prognosis Paradigm. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2016;16(5):43.
37. Gajjar AJ, Robinson GW. Medulloblastoma-translating discoveries from the bench to the bedside. *Nat Rev Clin Oncol*. 2014;11(12):714-722.
38. Farwell JR, Dohrmann GJ, Flannery JT. Medulloblastoma in childhood: an epidemiological study. *J Neurosurg*. 1984;61(4):657-664.
39. Evans DG, Farndon PA, Burnell LD, Gattamaneni HR, Birch JM. The incidence of Gorlin syndrome in 173 consecutive cases of medulloblastoma. *Br J Cancer*. 1991;64(5):959-961.
40. Hahn H, Wicking C, Zaphiropoulos PG, et al. Mutations of the human homolog of *Drosophila patched* in the nevoid basal cell carcinoma syndrome. *Cell*. 1996;85(6):841-851.
41. Johnson RL, Rothman AL, Xie J, et al. Human homolog of *patched*, a candidate gene for the basal cell nevus syndrome. *Science*. 1996;272(5268):1668-1671.
42. Albrecht S, von Deimling A, Pietsch T, et al. Microsatellite analysis of loss of heterozygosity on chromosomes 9q, 11p and 17p in medulloblastomas. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1994;20(1):74-81.
43. Soufir N, Gerard B, Portela M, et al. PTCH mutations and deletions in patients with typical nevoid basal cell carcinoma syndrome and in patients with a suspected genetic predisposition to basal cell carcinoma: a French study. *Br J Cancer*. 2006;95(4):548-553.
44. Gilbertson RJ, Ellison DW. The origins of medulloblastoma subtypes. *Annu Rev Pathol*. 2008;3:341-365.
45. Raffel C, Jenkins RB, Frederick L, et al. Sporadic medulloblastomas contain PTCH mutations. *Cancer Res*. 1997;57(5):842-845.
46. Pietsch T, Waha A, Koch A, et al. Medulloblastomas of the desmoplastic variant carry mutations of the human homologue of *Drosophila patched*. *Cancer Res*. 1997;57(11):2085-2088.
47. Slade I, Murray A, Hanks S, et al. Heterogeneity of familial medulloblastoma and contribution of germline PTCH1 and SUFU mutations to sporadic medulloblastoma. *Fam Cancer*. 2011;10(2):337-342.
48. Kool M, Jones DT, Jäger N, et al. Genome sequencing of SHH medulloblastoma predicts genotype-related response to smoothed inhibition. *Cancer Cell*. 2014;25(3):393-405.

49. Aurtenetxe Sáez O, Calvo B, Fernández-Teijeiro A, Pérez P, Navajas A. A prospective biological study in relation to a family with Li-Fraumeni syndrome. *Clin Transl Oncol*. 2012;14(5):396-398.
50. Taylor MD, Mainprize TG, Rutka JT. Molecular insight into medulloblastoma and central nervous system primitive neuroectodermal tumor biology from hereditary syndromes: a review. *Neurosurgery*. 2000;47(4):888-901.
51. Evans G, Burnell L, Campbell R, Gattamaneni HR, Birch J. Congenital anomalies and genetic syndromes in 173 cases of medulloblastoma. *Med Pediatr Oncol*. 1993;21(6):433-434.
52. Zhukova N, Ramaswamy V, Remke M, et al. Subgroup-specific prognostic implications of TP53 mutation in medulloblastoma. *J Clin Oncol*. 2013;31(23):2927-2935.
53. Tabori U, Baskin B, Shago M, et al. Universal poor survival in children with medulloblastoma harboring somatic TP53 mutations. *J Clin Oncol*. 2010;28(8):1345-1350.
54. Rausch T, Jones DT, Zapatka M, et al. Genome sequencing of pediatric medulloblastoma links catastrophic DNA rearrangements with TP53 mutations. *Cell*. 2012;148(1-2):59-71.
55. Hamilton SR, Liu B, Parsons RE, et al. The molecular basis of Turcot's syndrome. *N Engl J Med*. 1995;332(13):839-847.
56. Wang VY, Zoghbi HY. Genetic regulation of cerebellar development. *Nat Rev Neurosci*. 2001;2(7):484-491.
57. Giangaspero F, Eberhart C, Haapasalo H, Pietsch T, Wiestler O, Ellison D. Medulloblastoma. In: IARC, ed. *WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System*. 4 ed. Lyon2007:132-140.
58. F G, SH B, P K, T P, JQ T. Pathology and Genetics of Tumours of the Nervous System. In. IARC Press, Lyon,: Kleihues P and Cavenee WK (eds); 2000:129–137.
59. Kadin ME, Rubinstein LJ, Nelson JS. Neonatal cerebellar medulloblastoma originating from the fetal external granular layer. *J Neuropathol Exp Neurol*. 1970;29(4):583-600.
60. Polkinghorn WR, Tarbell NJ. Medulloblastoma: tumorigenesis, current clinical paradigm, and efforts to improve risk stratification. *Nat Clin Pract Oncol*. 2007;4(5):295-304.
61. Katsetos CD, Burger PC. Medulloblastoma. *Semin Diagn Pathol*. 1994;11(2):85-97.
62. Katsetos CD, Del Valle L, Legido A, de Chadarévian JP, Perentes E, Mörk SJ. On the neuronal/neuroblastic nature of medulloblastomas: a tribute to Pio del Rio Hortega and Moises Polak. *Acta Neuropathol*. 2003;105(1):1-13.
63. Becker LE, Hinton D. Primitive neuroectodermal tumors of the central nervous system. *Hum Pathol*. 1983;14(6):538-550.
64. Ellison D. Classifying the medulloblastoma: insights from morphology and molecular genetics. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2002;28(4):257-282.
65. Pomeroy SL, Tamayo P, Gaasenbeek M, et al. Prediction of central nervous system embryonal tumour outcome based on gene expression. *Nature*. 2002;415(6870):436-442.
66. Louis DN. *WHO classification of tumours of the central nervous system*. 4th ed. ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2007.

67. McManamy CS, Pears J, Weston CL, et al. Nodule formation and desmoplasia in medulloblastomas-defining the nodular/desmoplastic variant and its biological behavior. *Brain Pathol.* 2007;17(2):151-164.
68. Katsetos CD, Liu HM, Zacks SI. Immunohistochemical and ultrastructural observations on Homer Wright (neuroblastic) rosettes and the "pale islands" of human cerebellar medulloblastomas. *Hum Pathol.* 1988;19(10):1219-1227.
69. McManamy CS, Lamont JM, Taylor RE, et al. Morphophenotypic variation predicts clinical behavior in childhood non-desmoplastic medulloblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2003;62(6):627-632.
70. Eberhart CG, Kratz J, Wang Y, et al. Histopathological and molecular prognostic markers in medulloblastoma: c-myc, N-myc, TrkC, and anaplasia. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004;63(5):441-449.
71. Gajjar A, Hernan R, Kocak M, et al. Clinical, histopathologic, and molecular markers of prognosis: toward a new disease risk stratification system for medulloblastoma. *J Clin Oncol.* 2004;22(6):984-993.
72. Brown HG, Kepner JL, Perlman EJ, et al. "Large cell/anaplastic" medulloblastomas: a Pediatric Oncology Group Study. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2000;59(10):857-865.
73. Eberhart CG, Burger PC. Anaplasia and grading in medulloblastomas. *Brain Pathol.* 2003;13(3):376-385.
74. RUBINSTEIN LJ, NORTHFIELD DW. THE MEDULLOBLASTOMA AND THE SO-CALLED "ARACHNOIDAL CEREBELLAR SARCOMA". *Brain.* 1964;87:379-412.
75. Rutkowski S, Bode U, Deinlein F, et al. Treatment of early childhood medulloblastoma by postoperative chemotherapy alone. *N Engl J Med.* 2005;352(10):978-986.
76. Rutkowski S, Gerber NU, von Hoff K, et al. Treatment of early childhood medulloblastoma by postoperative chemotherapy and deferred radiotherapy. *Neuro Oncol.* 2009;11(2):201-210.
77. Grundy RG, Wilne SH, Robinson KJ, et al. Primary postoperative chemotherapy without radiotherapy for treatment of brain tumours other than ependymoma in children under 3 years: results of the first UKCCSG/SIOP CNS 9204 trial. *Eur J Cancer.* 2010;46(1):120-133.
78. Giangaspero F, Perilongo G, Fondelli MP, et al. Medulloblastoma with extensive nodularity: a variant with favorable prognosis. *J Neurosurg.* 1999;91(6):971-977.
79. Garrè ML, Cama A, Bagnasco F, et al. Medulloblastoma variants: age-dependent occurrence and relation to Gorlin syndrome--a new clinical perspective. *Clin Cancer Res.* 2009;15(7):2463-2471.
80. Taylor MD, Northcott PA, Korshunov A, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: the current consensus. *Acta Neuropathol.* 2012;123(4):465-472.
81. Giangaspero F, Rigobello L, Badiali M, et al. Large-cell medulloblastomas. A distinct variant with highly aggressive behavior. *Am J Surg Pathol.* 1992;16(7):687-693.
82. Leonard JR, Cai DX, Rivet DJ, et al. Large cell/anaplastic medulloblastomas and medullomyoblastomas: clinicopathological and genetic features. *J Neurosurg.* 2001;95(1):82-88.

83. Pfister SM, Korshunov A, Kool M, Hasselblatt M, Eberhart C, Taylor MD. Molecular diagnostics of CNS embryonal tumors. *Acta Neuropathol.* 2010;120(5):553-566.
84. Wilne S, Collier J, Kennedy C, et al. Progression from first symptom to diagnosis in childhood brain tumours. *Eur J Pediatr.* 2012;171(1):87-93.
85. Brasme JF, Grill J, Doz F, et al. Long time to diagnosis of medulloblastoma in children is not associated with decreased survival or with worse neurological outcome. *PLoS One.* 2012;7(4):e33415.
86. Halperin EC, Watson DM, George SL. Duration of symptoms prior to diagnosis is related inversely to presenting disease stage in children with medulloblastoma. *Cancer.* 2001;91(8):1444-1450.
87. Dhall G. Medulloblastoma. *J Child Neurol.* 2009;24(11):1418-1430.
88. Chang CH, Housepian EM, Herbert C. An operative staging system and a megavoltage radiotherapeutic technic for cerebellar medulloblastomas. *Radiology.* 1969;93(6):1351-1359.
89. Gilbertson RJ. Medulloblastoma: signalling a change in treatment. *Lancet Oncol.* 2004;5(4):209-218.
90. Packer RJ, Rood BR, MacDonald TJ. Medulloblastoma: present concepts of stratification into risk groups. *Pediatr Neurosurg.* 2003;39(2):60-67.
91. Cervoni L, Cantore G. Medulloblastoma in pediatric age: a single-institution review of prognostic factors. *Childs Nerv Syst.* 1995;11(2):80-84; discussion 85.
92. Caputy AJ, McCullough DC, Manz HJ, Patterson K, Hammock MK. A review of the factors influencing the prognosis of medulloblastoma. The importance of cell differentiation. *J Neurosurg.* 1987;66(1):80-87.
93. David KM, Casey AT, Hayward RD, Harkness WF, Phipps K, Wade AM. Medulloblastoma: is the 5-year survival rate improving? A review of 80 cases from a single institution. *J Neurosurg.* 1997;86(1):13-21.
94. Visée S, Soltner C, Rialland X, et al. Supratentorial primitive neuroectodermal tumours of the brain: multidirectional differentiation does not influence prognosis. A clinicopathological report of 18 patients. *Histopathology.* 2005;46(4):403-412.
95. Bailey CC, Gnekow A, Wellek S, et al. Prospective randomised trial of chemotherapy given before radiotherapy in childhood medulloblastoma. International Society of Paediatric Oncology (SIOP) and the (German) Society of Paediatric Oncology (GPO): SIOP II. *Med Pediatr Oncol.* 1995;25(3):166-178.
96. Bouffet E, Gentet JC, Doz F, et al. Metastatic medulloblastoma: the experience of the French Cooperative M7 Group. *Eur J Cancer.* 1994;30A(10):1478-1483.
97. Tait DM, Thornton-Jones H, Bloom HJ, Lemerle J, Morris-Jones P. Adjuvant chemotherapy for medulloblastoma: the first multi-centre control trial of the International Society of Paediatric Oncology (SIOP I). *Eur J Cancer.* 1990;26(4):464-469.
98. Thompson EM, Hielscher T, Bouffet E, et al. Prognostic value of medulloblastoma extent of resection after accounting for molecular subgroup: a retrospective integrated clinical and molecular analysis. *Lancet Oncol.* 2016;17(4):484-495.
99. Gilbertson RJ. Finding the perfect partner for medulloblastoma prognostication. *J Clin Oncol.* 2011;29(29):3841-3842.

100. Fattet S, Haberler C, Legoix P, et al. Beta-catenin status in paediatric medulloblastomas: correlation of immunohistochemical expression with mutational status, genetic profiles, and clinical characteristics. *J Pathol.* 2009;218(1):86-94.
101. Clifford SC, Lusher ME, Lindsey JC, et al. Wnt/Wingless pathway activation and chromosome 6 loss characterize a distinct molecular sub-group of medulloblastomas associated with a favorable prognosis. *Cell Cycle.* 2006;5(22):2666-2670.
102. Ellison DW, Onilude OE, Lindsey JC, et al. beta-Catenin status predicts a favorable outcome in childhood medulloblastoma: the United Kingdom Children's Cancer Study Group Brain Tumour Committee. *J Clin Oncol.* 2005;23(31):7951-7957.
103. Pfister S, Remke M, Benner A, et al. Outcome prediction in pediatric medulloblastoma based on DNA copy-number aberrations of chromosomes 6q and 17q and the MYC and MYCN loci. *J Clin Oncol.* 2009;27(10):1627-1636.
104. Ellison DW, Kocak M, Dalton J, et al. Definition of disease-risk stratification groups in childhood medulloblastoma using combined clinical, pathologic, and molecular variables. *J Clin Oncol.* 2011;29(11):1400-1407.
105. Grotzer MA, Hogarty MD, Janss AJ, et al. MYC messenger RNA expression predicts survival outcome in childhood primitive neuroectodermal tumor/medulloblastoma. *Clin Cancer Res.* 2001;7(8):2425-2433.
106. Grotzer MA, Janss AJ, Fung K, et al. TrkC expression predicts good clinical outcome in primitive neuroectodermal brain tumors. *J Clin Oncol.* 2000;18(5):1027-1035.
107. Segal RA, Goumnerova LC, Kwon YK, Stiles CD, Pomeroy SL. Expression of the neurotrophin receptor TrkC is linked to a favorable outcome in medulloblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1994;91(26):12867-12871.
108. Gilbertson R, Wickramasinghe C, Hernan R, et al. Clinical and molecular stratification of disease risk in medulloblastoma. *Br J Cancer.* 2001;85(5):705-712.
109. Biegel JA, Janss AJ, Raffel C, et al. Prognostic significance of chromosome 17p deletions in childhood primitive neuroectodermal tumors (medulloblastomas) of the central nervous system. *Clin Cancer Res.* 1997;3(3):473-478.
110. Bigner SH, Mark J, Friedman HS, Biegel JA, Bigner DD. Structural chromosomal abnormalities in human medulloblastoma. *Cancer Genet Cytogenet.* 1988;30(1):91-101.
111. Shih DJ, Northcott PA, Remke M, et al. Cytogenetic prognostication within medulloblastoma subgroups. *J Clin Oncol.* 2014;32(9):886-896.
112. Jones D, Kurshunov A, Pfister S, Taylor M, Northcott P. Medulloblastoma and CNS Primitive Neuroectodermal Tumors. In: Karajannis MA, Zagzag D, eds. *Molecular pathology of Nervous System Tumors: biological stratification and targeted therapies.* Vol 8.2014:121-142.
113. McCabe MG, Bäcklund LM, Leong HS, Ichimura K, Collins VP. Chromosome 17 alterations identify good-risk and poor-risk tumors independently of clinical factors in medulloblastoma. *Neuro Oncol.* 2011;13(4):376-383.

114. Lo KC, Ma C, Bundy BN, Pomeroy SL, Eberhart CG, Cowell JK. Gain of 1q is a potential univariate negative prognostic marker for survival in medulloblastoma. *Clin Cancer Res.* 2007;13(23):7022-7028.
115. Northcott PA, Hielscher T, Dubuc A, et al. Pediatric and adult sonic hedgehog medulloblastomas are clinically and molecularly distinct. *Acta Neuropathol.* 2011;122(2):231-240.
116. Kool M, Korshunov A, Remke M, et al. Molecular subgroups of medulloblastoma: an international meta-analysis of transcriptome, genetic aberrations, and clinical data of WNT, SHH, Group 3, and Group 4 medulloblastomas. *Acta Neuropathol.* 2012;123(4):473-484.
117. Korshunov A, Remke M, Werft W, et al. Adult and pediatric medulloblastomas are genetically distinct and require different algorithms for molecular risk stratification. *J Clin Oncol.* 2010;28(18):3054-3060.
118. Batra SK, McLendon RE, Koo JS, et al. Prognostic implications of chromosome 17p deletions in human medulloblastomas. *J Neurooncol.* 1995;24(1):39-45.
119. Park AK, Lee SJ, Phi JH, et al. Prognostic classification of pediatric medulloblastoma based on chromosome 17p loss, expression of MYCC and MYCN, and Wnt pathway activation. *Neuro Oncol.* 2012;14(2):203-214.
120. Lamont JM, McManamy CS, Pearson AD, Clifford SC, Ellison DW. Combined histopathological and molecular cytogenetic stratification of medulloblastoma patients. *Clin Cancer Res.* 2004;10(16):5482-5493.
121. Pan E, Pellarin M, Holmes E, et al. Isochromosome 17q is a negative prognostic factor in poor-risk childhood medulloblastoma patients. *Clin Cancer Res.* 2005;11(13):4733-4740.
122. Mendrzyk F, Radlwimmer B, Joos S, et al. Genomic and protein expression profiling identifies CDK6 as novel independent prognostic marker in medulloblastoma. *J Clin Oncol.* 2005;23(34):8853-8862.
123. Aldosari N, Bigner SH, Burger PC, et al. MYCC and MYCN oncogene amplification in medulloblastoma. A fluorescence in situ hybridization study on paraffin sections from the Children's Oncology Group. *Arch Pathol Lab Med.* 2002;126(5):540-544.
124. Ryan SL, Schwalbe EC, Cole M, et al. MYC family amplification and clinical risk-factors interact to predict an extremely poor prognosis in childhood medulloblastoma. *Acta Neuropathol.* 2012;123(4):501-513.
125. Scheurlen WG, Schwabe GC, Joos S, Mollenhauer J, Sörensen N, Kühl J. Molecular analysis of childhood primitive neuroectodermal tumors defines markers associated with poor outcome. *J Clin Oncol.* 1998;16(7):2478-2485.
126. Bien-Willner GA, López-Terrada D, Bhattacharjee MB, et al. Early recurrence in standard-risk medulloblastoma patients with the common *idic(17)(p11.2)* rearrangement. *Neuro Oncol.* 2012;14(7):831-840.
127. Adamson DC, Shi Q, Wortham M, et al. OTX2 is critical for the maintenance and progression of Shh-independent medulloblastomas. *Cancer Res.* 2010;70(1):181-191.
128. Gershon TR, Becher OJ. Medulloblastoma: therapy and biologic considerations. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2006;6(3):200-206.
129. Mueller S, Chang S. Pediatric brain tumors: current treatment strategies and future therapeutic approaches. *Neurotherapeutics.* 2009;6(3):570-586.
130. Gottardo NG, Gajjar A. Current therapy for medulloblastoma. *Curr Treat Options Neurol.* 2006;8(4):319-334.

131. Gajjar A, Sanford RA, Bhargava R, et al. Medulloblastoma with brain stem involvement: the impact of gross total resection on outcome. *Pediatr Neurosurg.* 1996;25(4):182-187.
132. De Braganca KC, Packer RJ. Treatment Options for Medulloblastoma and CNS Primitive Neuroectodermal Tumor (PNET). *Curr Treat Options Neurol.* 2013;15(5):593-606.
133. Albright AL, Sposto R, Holmes E, et al. Correlation of neurosurgical subspecialization with outcomes in children with malignant brain tumors. *Neurosurgery.* 2000;47(4):879-885; discussion 885-877.
134. Fertil B, Malaise EP. Intrinsic radiosensitivity of human cell lines is correlated with radioresponsiveness of human tumors: analysis of 101 published survival curves. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1985;11(9):1699-1707.
135. Freeman CR, Taylor RE, Kortmann RD, Carrie C. Radiotherapy for medulloblastoma in children: a perspective on current international clinical research efforts. *Med Pediatr Oncol.* 2002;39(2):99-108.
136. Thomas PR, Deutsch M, Kepner JL, et al. Low-stage medulloblastoma: final analysis of trial comparing standard-dose with reduced-dose neuraxis irradiation. *J Clin Oncol.* 2000;18(16):3004-3011.
137. Kieffer-Renaux V, Bulteau C, Grill J, Kalifa C, Viguier D, Jambaque I. Patterns of neuropsychological deficits in children with medulloblastoma according to craniospinal irradiation doses. *Dev Med Child Neurol.* 2000;42(11):741-745.
138. Massimino M, Giangaspero F, Garrè ML, et al. Childhood medulloblastoma. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2011;79(1):65-83.
139. Grill J, Renaux VK, Bulteau C, et al. Long-term intellectual outcome in children with posterior fossa tumors according to radiation doses and volumes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1999;45(1):137-145.
140. Silber JH, Radcliffe J, Peckham V, et al. Whole-brain irradiation and decline in intelligence: the influence of dose and age on IQ score. *J Clin Oncol.* 1992;10(9):1390-1396.
141. Packer RJ, Gajjar A, Vezina G, et al. Phase III study of craniospinal radiation therapy followed by adjuvant chemotherapy for newly diagnosed average-risk medulloblastoma. *J Clin Oncol.* 2006;24(25):4202-4208.
142. Merchant TE, Kun LE, Krasin MJ, et al. Multi-institution prospective trial of reduced-dose craniospinal irradiation (23.4 Gy) followed by conformal posterior fossa (36 Gy) and primary site irradiation (55.8 Gy) and dose-intensive chemotherapy for average-risk medulloblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2008;70(3):782-787.
143. Loeffler JS, Kooy HM, Tarbell NJ. The emergence of conformal radiotherapy: special implications for pediatric neuro-oncology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1999;44(2):237-238.
144. Lannering B, Rutkowski S, Doz F, et al. Hyperfractionated versus conventional radiotherapy followed by chemotherapy in standard-risk medulloblastoma: results from the randomized multicenter HIT-SIOP PNET 4 trial. *J Clin Oncol.* 2012;30(26):3187-3193.
145. Carrie C, Muracciole X, Gomez F, et al. Conformal radiotherapy, reduced boost volume, hyperfractionated radiotherapy, and online quality control in standard-risk medulloblastoma without chemotherapy: results of the French M-SFOP 98 protocol. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;63(3):711-716.

146. Yock TI, Yeap BY, Ebb DH, et al. Long-term toxic effects of proton radiotherapy for paediatric medulloblastoma: a phase 2 single-arm study. *Lancet Oncol.* 2016;17(3):287-298.
147. Eaton BR, Esiashvili N, Kim S, et al. Clinical Outcomes Among Children With Standard-Risk Medulloblastoma Treated With Proton and Photon Radiation Therapy: A Comparison of Disease Control and Overall Survival. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2016;94(1):133-138.
148. Yuh GE, Loredó LN, Yonemoto LT, et al. Reducing toxicity from craniospinal irradiation: using proton beams to treat medulloblastoma in young children. *Cancer J.* 2004;10(6):386-390.
149. Duffner PK, Horowitz ME, Krischer JP, et al. Postoperative chemotherapy and delayed radiation in children less than three years of age with malignant brain tumors. *N Engl J Med.* 1993;328(24):1725-1731.
150. Massimino M, Cefalo G, Riva D, et al. Long-term results of combined preradiation chemotherapy and age-tailored radiotherapy doses for childhood medulloblastoma. *J Neurooncol.* 2012;108(1):163-171.
151. Grill J, Sainte-Rose C, Jouvét A, et al. Treatment of medulloblastoma with postoperative chemotherapy alone: an SFOP prospective trial in young children. *Lancet Oncol.* 2005;6(8):573-580.
152. Wang CH, Hsu TR, Wong TT, Chang KP. Efficacy of temozolomide for recurrent embryonal brain tumors in children. *Childs Nerv Syst.* 2009;25(5):535-541.
153. Valteau-Couanet D, Filipini B, Benhamou E, et al. High-dose busulfan and thiotepa followed by autologous stem cell transplantation (ASCT) in previously irradiated medulloblastoma patients: high toxicity and lack of efficacy. *Bone Marrow Transplant.* 2005;36(11):939-945.
154. Pérez-Martínez A, Lassaletta A, González-Vicent M, Sevilla J, Díaz MA, Madero L. High-dose chemotherapy with autologous stem cell rescue for children with high risk and recurrent medulloblastoma and supratentorial primitive neuroectodermal tumors. *J Neurooncol.* 2005;71(1):33-38.
155. S G, IJ D, S G, et al. Myeloablative chemotherapy with autologous bone marrow rescue in young children with recurrent malignant brain tumors. *Journal of Clinical Oncology.* 1998;16(7 (July)):2486-2493.
156. Gottardo NG, Hansford JR, McGlade JP, et al. Medulloblastoma Down Under 2013: a report from the third annual meeting of the International Medulloblastoma Working Group. *Acta Neuropathol.* 2014;127(2):189-201.
157. Fangusaro J, Finlay J, Sposto R, et al. Intensive chemotherapy followed by consolidative myeloablative chemotherapy with autologous hematopoietic cell rescue (AuHCR) in young children with newly diagnosed supratentorial primitive neuroectodermal tumors (sPNETs): report of the Head Start I and II experience. *Pediatr Blood Cancer.* 2008;50(2):312-318.
158. Dufour C, Kieffer V, Varlet P, et al. Tandem high-dose chemotherapy and autologous stem cell rescue in children with newly diagnosed high-risk medulloblastoma or supratentorial primitive neuro-ectodermic tumors. *Pediatr Blood Cancer.* 2014;61(8):1398-1402.
159. Klesse LJ, Bowers DC. Childhood medulloblastoma: current status of biology and treatment. *CNS Drugs.* 2010;24(4):285-301.
160. Garre' ML, Cama A, Milanaccio C, Gandola L, Massimino M, Dallorso S. New concepts in the treatment of brain tumors in very young children. *Expert Rev Neurother.* 2006;6(4):489-500.

161. Duffner PK, Horowitz ME, Krischer JP, et al. The treatment of malignant brain tumors in infants and very young children: an update of the Pediatric Oncology Group experience. *Neuro Oncol.* 1999;1(2):152-161.
162. Dallorso S, Dini G, Ladenstein R, et al. Evolving role of myeloablative chemotherapy in the treatment of childhood brain tumours. *Bone Marrow Transplant.* 2005;35 Suppl 1:S31-34.
163. Kalifa C, Valteau D, Pizer B, Vassal G, Grill J, Hartmann O. High-dose chemotherapy in childhood brain tumours. *Childs Nerv Syst.* 1999;15(10):498-505.
164. Rutkowski S, von Hoff K, Emser A, et al. Survival and prognostic factors of early childhood medulloblastoma: an international meta-analysis. *J Clin Oncol.* 2010;28(33):4961-4968.
165. Dunkel IJ, Gardner SL, Garvin JH, Goldman S, Shi W, Finlay JL. High-dose carboplatin, thiotepa, and etoposide with autologous stem cell rescue for patients with previously irradiated recurrent medulloblastoma. *Neuro Oncol.* 2010;12(3):297-303.
166. Kieran MW. Anti-angiogenic therapy in pediatric neuro-oncology. *J Neurooncol.* 2005;75(3):327-334.
167. Robison NJ, Campigotto F, Chi SN, et al. A phase II trial of a multi-agent oral antiangiogenic (metronomic) regimen in children with recurrent or progressive cancer. *Pediatr Blood Cancer.* 2014;61(4):636-642.
168. Choi LM, Rood B, Kamani N, et al. Feasibility of metronomic maintenance chemotherapy following high-dose chemotherapy for malignant central nervous system tumors. *Pediatr Blood Cancer.* 2008;50(5):970-975.
169. Peyrl A, Chocholous M, Kieran MW, et al. Antiangiogenic metronomic therapy for children with recurrent embryonal brain tumors. *Pediatr Blood Cancer.* 2012;59(3):511-517.
170. Pramanik R, Agarwala S, Gupta YK, et al. Metronomic Chemotherapy vs Best Supportive Care in Progressive Pediatric Solid Malignant Tumors: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol.* 2017.
171. Thompson MC, Fuller C, Hogg TL, et al. Genomics identifies medulloblastoma subgroups that are enriched for specific genetic alterations. *J Clin Oncol.* 2006;24(12):1924-1931.
172. Kool M, Koster J, Bunt J, et al. Integrated genomics identifies five medulloblastoma subtypes with distinct genetic profiles, pathway signatures and clinicopathological features. *PLoS One.* 2008;3(8):e3088.
173. Cho YJ, Tsherniak A, Tamayo P, et al. Integrative genomic analysis of medulloblastoma identifies a molecular subgroup that drives poor clinical outcome. *J Clin Oncol.* 2011;29(11):1424-1430.
174. Northcott PA, Korshunov A, Witt H, et al. Medulloblastoma comprises four distinct molecular variants. *J Clin Oncol.* 2011;29(11):1408-1414.
175. Wolter M, Reifenberger J, Sommer C, Ruzicka T, Reifenberger G. Mutations in the human homologue of the Drosophila segment polarity gene patched (PTCH) in sporadic basal cell carcinomas of the skin and primitive neuroectodermal tumors of the central nervous system. *Cancer Res.* 1997;57(13):2581-2585.
176. Koch A, Waha A, Tonn JC, et al. Somatic mutations of WNT/wingless signaling pathway components in primitive neuroectodermal tumors. *Int J Cancer.* 2001;93(3):445-449.

177. Logan CY, Nusse R. The Wnt signaling pathway in development and disease. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2004;20:781-810.
178. Taipale J, Beachy PA. The Hedgehog and Wnt signalling pathways in cancer. *Nature.* 2001;411(6835):349-354.
179. Eberhart CG, Tihan T, Burger PC. Nuclear localization and mutation of beta-catenin in medulloblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2000;59(4):333-337.
180. Huang H, Mahler-Araujo BM, Sankila A, et al. APC mutations in sporadic medulloblastomas. *Am J Pathol.* 2000;156(2):433-437.
181. Taylor MD, Liu L, Raffel C, et al. Mutations in SUFU predispose to medulloblastoma. *Nat Genet.* 2002;31(3):306-310.
182. Koch A, Waha A, Hartmann W, et al. No evidence for mutations or altered expression of the Suppressor of Fused gene (SUFU) in primitive neuroectodermal tumours. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2004;30(5):532-539.
183. Northcott PA, Jones DT, Kool M, et al. Medulloblastomics: the end of the beginning. *Nat Rev Cancer.* 2012;12(12):818-834.
184. Northcott PA, Shih DJ, Peacock J, et al. Subgroup-specific structural variation across 1,000 medulloblastoma genomes. *Nature.* 2012;488(7409):49-56.
185. Ellison DW, Dalton J, Kocak M, et al. Medulloblastoma: clinicopathological correlates of SHH, WNT, and non-SHH/WNT molecular subgroups. *Acta Neuropathol.* 2011;121(3):381-396.
186. Clifford SC, Lannering B, Schwalbe EC, et al. Biomarker-driven stratification of disease-risk in non-metastatic medulloblastoma: Results from the multicenter HIT-SIOP-PNET4 clinical trial. *Oncotarget.* 2015;6(36):38827-38839.
187. Remke M, Hielscher T, Northcott PA, et al. Adult medulloblastoma comprises three major molecular variants. *J Clin Oncol.* 2011;29(19):2717-2723.
188. Pietsch T, Schmidt R, Remke M, et al. Prognostic significance of clinical, histopathological, and molecular characteristics of medulloblastomas in the prospective HIT2000 multicenter clinical trial cohort. *Acta Neuropathol.* 2014;128(1):137-149.
189. Gibson P, Tong Y, Robinson G, et al. Subtypes of medulloblastoma have distinct developmental origins. *Nature.* 2010;468(7327):1095-1099.
190. Northcott PA, Korshunov A, Pfister SM, Taylor MD. The clinical implications of medulloblastoma subgroups. *Nat Rev Neurol.* 2012;8(6):340-351.
191. Robinson G, Parker M, Kranenburg TA, et al. Novel mutations target distinct subgroups of medulloblastoma. *Nature.* 2012;488(7409):43-48.
192. Remke M, Hielscher T, Korshunov A, et al. FSTL5 is a marker of poor prognosis in non-WNT/non-SHH medulloblastoma. *J Clin Oncol.* 2011;29(29):3852-3861.
193. Robinson GW, Orr BA, Wu G, et al. Vismodegib Exerts Targeted Efficacy Against Recurrent Sonic Hedgehog-Subgroup Medulloblastoma: Results From Phase II Pediatric Brain Tumor Consortium Studies PBTC-025B and PBTC-032. *J Clin Oncol.* 2015;33(24):2646-2654.
194. Kim J, Tang JY, Gong R, et al. Itraconazole, a commonly used antifungal that inhibits Hedgehog pathway activity and cancer growth. *Cancer Cell.* 2010;17(4):388-399.
195. Jones DT, Jäger N, Kool M, et al. Dissecting the genomic complexity underlying medulloblastoma. *Nature.* 2012;488(7409):100-105.

196. *R: A language and environment for statistical computing* [computer program]. Vienna, Austria 2013.
197. *Modeling Survival Data: Extending the Cox Model* [computer program]. New York: Springer; 2015.
198. Allen J, Donahue B, Mehta M, et al. A phase II study of preradiotherapy chemotherapy followed by hyperfractionated radiotherapy for newly diagnosed high-risk medulloblastoma/primitive neuroectodermal tumor: a report from the Children's Oncology Group (CCG 9931). *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;74(4):1006-1011.
199. Mason WP, Grovas A, Halpern S, et al. Intensive chemotherapy and bone marrow rescue for young children with newly diagnosed malignant brain tumors. *J Clin Oncol.* 1998;16(1):210-221.
200. Chi SN, Gardner SL, Levy AS, et al. Feasibility and response to induction chemotherapy intensified with high-dose methotrexate for young children with newly diagnosed high-risk disseminated medulloblastoma. *J Clin Oncol.* 2004;22(24):4881-4887.
201. Ellison DW. Childhood medulloblastoma: novel approaches to the classification of a heterogeneous disease. *Acta Neuropathol.* 2010;120(3):305-316.
202. Balaguer J, Cañete A, Costa E, Oltra S, Hernández M, Castel V. Tumour banks in pediatric oncology. *Clin Transl Oncol.* 2006;8(12):884-888.
203. Weil AG, Wang AC, Westwick HJ, et al. Survival in pediatric medulloblastoma: a population-based observational study to improve prognostication. *J Neurooncol.* 2016.
204. Igual Estellés L, Berlanga Charriel P, Cañete Nieto A. [Medulloblastoma: improved survival in recent decades. Unicentric experience]. *An Pediatr (Barc).* 2017;86(1):4-10.
205. Modha A, Vassilyadi M, George A, Kuehn S, Hsu E, Ventureyra EC. Medulloblastoma in children--the Ottawa experience. *Childs Nerv Syst.* 2000;16(6):341-350.
206. Michiels EM, Heikens J, Jansen MJ, Oldenburger F, Voûte T. Are clinical parameters valuable prognostic factors in childhood primitive neuroectodermal tumors? A multivariate analysis of 105 cases. *Radiother Oncol.* 2000;54(3):229-238.
207. Weil MD, Lamborn K, Edwards MS, Wara WM. Influence of a child's sex on medulloblastoma outcome. *JAMA.* 1998;279(18):1474-1476.
208. Dufour C, Beaugrand A, Pizer B, et al. Metastatic Medulloblastoma in Childhood: Chang's Classification Revisited. *Int J Surg Oncol.* 2012;2012:245385.
209. Albright AL, Wisoff JH, Zeltzer PM, Boyett JM, Rorke LB, Stanley P. Effects of medulloblastoma resections on outcome in children: a report from the Children's Cancer Group. *Neurosurgery.* 1996;38(2):265-271.
210. Terterov S, Krieger MD, Bowen I, McComb JG. Evaluation of intracranial cerebrospinal fluid cytology in staging pediatric medulloblastomas, supratentorial primitive neuroectodermal tumors, and ependymomas. *J Neurosurg Pediatr.* 2010;6(2):131-136.
211. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2007;114(2):97-109.

212. Burger PC, Grahmann FC, Bliestle A, Kleihues P. Differentiation in the medulloblastoma. A histological and immunohistochemical study. *Acta Neuropathol.* 1987;73(2):115-123.
213. Maleci A, Cervoni L, Delfini R. Medulloblastoma in children and in adults: a comparative study. *Acta Neurochir (Wien).* 1992;119(1-4):62-67.
214. Eberhart CG, Kepner JL, Goldthwaite PT, et al. Histopathologic grading of medulloblastomas: a Pediatric Oncology Group study. *Cancer.* 2002;94(2):552-560.
215. Suresh TN, Santosh V, Yasha TC, et al. Medulloblastoma with extensive nodularity: a variant occurring in the very young-clinicopathological and immunohistochemical study of four cases. *Childs Nerv Syst.* 2004;20(1):55-60.
216. Rogers HA, Miller S, Lowe J, Brundler MA, Coyle B, Grundy RG. An investigation of WNT pathway activation and association with survival in central nervous system primitive neuroectodermal tumours (CNS PNET). *Br J Cancer.* 2009;100(8):1292-1302.
217. Eberhart CG, Chaudhry A, Daniel RW, Khaki L, Shah KV, Gravitt PE. Increased p53 immunopositivity in anaplastic medulloblastoma and supratentorial PNET is not caused by JC virus. *BMC Cancer.* 2005;5:19.
218. Miralbell R, Tolnay M, Bieri S, et al. Pediatric medulloblastoma: prognostic value of p53, bcl-2, Mib-1, and microvessel density. *J Neurooncol.* 1999;45(2):103-110.
219. Jaros E, Lunec J, Perry RH, Kelly PJ, Pearson AD. p53 protein overexpression identifies a group of central primitive neuroectodermal tumours with poor prognosis. *Br J Cancer.* 1993;68(4):801-807.
220. Woodburn RT, Azzarelli B, Montebello JF, Goss IE. Intense p53 staining is a valuable prognostic indicator for poor prognosis in medulloblastoma/central nervous system primitive neuroectodermal tumors. *J Neurooncol.* 2001;52(1):57-62.
221. Pérez Ebri ML. *Busqueda del gen supresor de tumores implicado en medulloblastoma.* Valencia: Patología, Universidad de Valencia; 2008.
222. Rutkowski S, von Bueren A, von Hoff K, et al. Prognostic relevance of clinical and biological risk factors in childhood medulloblastoma: results of patients treated in the prospective multicenter trial HIT'91. *Clin Cancer Res.* 2007;13(9):2651-2657.
223. Eberhart CG, Kratz JE, Schuster A, et al. Comparative genomic hybridization detects an increased number of chromosomal alterations in large cell/anaplastic medulloblastomas. *Brain Pathol.* 2002;12(1):36-44.
224. Jay V, Squire J, Bayani J, Alkhani AM, Rutka JT, Zielenska M. Oncogene amplification in medulloblastoma: analysis of a case by comparative genomic hybridization and fluorescence in situ hybridization. *Pathology.* 1999;31(4):337-344.
225. Morrissy AS, Cavalli FMG, Remke M, et al. Spatial heterogeneity in medulloblastoma. *Nat Genet.* 2017.
226. Johnston DL, Keene D, Kostova M, et al. Survival of children with medulloblastoma in Canada diagnosed between 1990 and 2009 inclusive. *J Neurooncol.* 2015;124(2):247-253.
227. Mathew RK, O'Kane R, Parslow R, et al. Comparison of survival between the UK and US after surgery for most common pediatric CNS tumors. *Neuro Oncol.* 2014;16(8):1137-1145.

228. Tulla M, Berthold F, Graf N, et al. Incidence, Trends, and Survival of Children With Embryonal Tumors. *Pediatrics*. 2015;136(3):e623-632.
229. Bleyer A, Ferrari A, Whelan J, Barr RD. Global assessment of cancer incidence and survival in adolescents and young adults. *Pediatr Blood Cancer*. 2017.
230. Allemani C, Weir HK, Carreira H, et al. Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25,676,887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2). *Lancet*. 2015;385(9972):977-1010.
231. Perreault S, Lober RM, Carret AS, et al. Relapse patterns in pediatric embryonal central nervous system tumors. *J Neurooncol*. 2013;115(2):209-215.
232. Sabel M, Fleischhack G, Tippelt S, et al. Relapse patterns and outcome after relapse in standard risk medulloblastoma: a report from the HIT-SIOP-PNET4 study. *J Neurooncol*. 2016;129(3):515-524.
233. Bouffet E, Doz F, Demaille MC, et al. Improving survival in recurrent medulloblastoma: earlier detection, better treatment or still an impasse? *Br J Cancer*. 1998;77(8):1321-1326.
234. Bode U, Zimmermann M, Moser O, et al. Treatment of recurrent primitive neuroectodermal tumors (PNET) in children and adolescents with high-dose chemotherapy (HDC) and stem cell support: results of the HITREZ 97 multicentre trial. *J Neurooncol*. 2014;120(3):635-642.
235. Hill RM, Kuijper S, Lindsey JC, et al. Combined MYC and P53 defects emerge at medulloblastoma relapse and define rapidly progressive, therapeutically targetable disease. *Cancer Cell*. 2015;27(1):72-84.
236. Koschmann C, Bloom K, Upadhyaya S, Geyer JR, Leary SE. Survival After Relapse of Medulloblastoma. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2016;38(4):269-273.
237. Ramaswamy V, Remke M, Bouffet E, et al. Recurrence patterns across medulloblastoma subgroups: an integrated clinical and molecular analysis. *Lancet Oncol*. 2013;14(12):1200-1207.
238. Massimino M, Casanova M, Polastri D, et al. Relapse in medulloblastoma: what can be done after abandoning high-dose chemotherapy? A mono-institutional experience. *Childs Nerv Syst*. 2013;29(7):1107-1112.
239. Massimino M, Spreafico F, Pignoli E, Gandola L. Comment on: The UK Experience of a Treatment Strategy for Pediatric Metastatic Medulloblastoma Comprising Intensive Induction Chemotherapy, Hyperfractionated Accelerated Radiotherapy, and Response Directed High-Dose Myeloablative Chemotherapy or Maintenance Chemotherapy (Milan Strategy). *Pediatr Blood Cancer*. 2016;63(6):1123-1124.
240. Perek D, Perek-Polnik M, Drogosiewicz M, Dembowska-Bagińska B, Roszkowski M, Barszcz S. Risk factors of recurrence in 157 MB/PNET patients treated in one institution. *Childs Nerv Syst*. 1998;14(10):582-586.
241. Park TS, Hoffman HJ, Hendrick EB, Humphreys RP, Becker LE. Medulloblastoma: clinical presentation and management. Experience at the hospital for sick children, toronto, 1950-1980. *J Neurosurg*. 1983;58(4):543-552.
242. Verlooy J, Mosseri V, Bracard S, et al. Treatment of high risk medulloblastomas in children above the age of 3 years: a SFOP study. *Eur J Cancer*. 2006;42(17):3004-3014.

243. Jenkin D, Shabanah MA, Shail EA, et al. Prognostic factors for medulloblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;47(3):573-584.