

REVISTA COLOMBIANA DE
HEMATOLOGÍA
Y ONCOLOGÍA



ACHO

REVISTA COLOMBIANA DE
HEMATOLOGÍA
Y ONCOLOGÍA



ACHO

ACHO - Asociación Colombiana de Hematología y Oncología

Congreso ACHO 2012
 Noviembre 16 y 17 de 2012,
 Medellín, Colombia

En nombre de todo el Comité Organizador, es un gran honor invitarles al II Congreso de Actualización de la Asociación Colombiana de Hematología y Oncología (ACHO)



Revista Colombiana de Hematología y Oncología

Revista ACHO Investigación Pacientes Ultimo Video



www.acho.com.co

¡En construcción!

Miembros de la Junta Directiva ACHO 2011-2013

Presidente

Raimundo Manneh, MD

Vicepresidente

Carmen Rosales, MD

Secretario

Vanessa Ospina, MD

Tesorero

Carmen Rosales, MD

Vocales

Claudia Patricia Casas, MD, MSc
Andrés Felipe Cardona, MD, MSc, PhD
Ricardo Bruges, MD
Claudia Sossa, MD
Jaime González, MD
Javier Segovia, MD
William Mantilla, MD
Joaquín Guerra, MD
Gabriel Rodríguez, MD

COMITÉ EDITORIAL

Editor Jefe

Andrés Felipe Cardona, MD, MSc, PhD
Grupo Oncología Clínica y Traslacional
Instituto de Oncología Fundación
Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia)

Editor Emérito

José Félix Patiño, MD, FACS hon.
Departamento de Cirugía
Grupo Soporte Metabólico y Nutricional
Fundación Santa Fe de Bogotá

Editor Ejecutivo

Diana Rivera, BS, MSc
Grupo Políticas y Movilización Social
Subdirección de Investigaciones
Instituto Nacional de Cancerología ESE
(Bogotá, Colombia)

Asistentes del editor

Henry Becerra, MD
Grupo Oncología Clínica y Traslacional
Instituto de Oncología Fundación
Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia)

Andrés Acevedo, MD
Grupo Hematología y Trasplante
de Médula Ósea Instituto de Oncología
Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia)



REVISTA COLOMBIANA DE HEMATOLOGÍA Y ONCOLOGÍA

SEPTIEMBRE DE 2012 • VOLUMEN 1 - NÚMERO 3 [Publicación oficial de la Asociación Colombiana de Hematología y Oncología]

MIEMBROS DEL COMITÉ EDITORIAL

León Darío Ortiz, MD, MSc
Departamento de Oncología
Instituto de Cancerología, Clínica Las Américas
(Medellín, Colombia)

Diana Torres, BSc, PhD
Instituto de Genética Humana
Pontificia Universidad Javeriana
(Bogotá, Colombia)

Ismael Samudio, Bioq., PhD
Departamento de Bioquímica
Pontificia Universidad Javeriana
(Bogotá, Colombia)

Noemí Reguart, MD, PhD
Instituto Clínico de Enfermedades
Hematológicas y Oncológicas (ICEHO)
Hospital Clínico y Provincial de Barcelona
(Barcelona, España)

Mauricio Lema, MD
Departamento de Hematología y Oncología
Clínica de Oncología Astorga
(Medellín, Colombia)

Andrés Yepes, MD
Departamento de Oncología
Hospital Pablo Tobón Uribe (Medellín, Colombia)

Ricardo Bruges, MD
Grupo Oncología Clínica
Instituto Nacional de Cancerología
(Bogotá, Colombia)

Hernán Carranza, MD
Grupo Oncología Clínica y Traslacional
Instituto de Oncología Fundación Santa Fe
de Bogotá (Bogotá, Colombia)

Myriam Rodríguez, MD
Grupo Hematología y Trasplante de Médula Ósea
Instituto de Oncología Fundación Santa Fe de
Bogotá (Bogotá, Colombia)

Ricardo Cendales, MD, MSc, PhD
Grupo de Radioterapia
Clínica del Country (Bogotá, Colombia)

EDITORES ASOCIADOS

Ana María González, MD, MSc, PhD
Grupo Oncología Mamaria
The University of Texas MD Anderson Cancer
Center (Houston, Texas, EE. UU.)

Rafael Rosell, MD, PhD
Departamento de Oncología Médica
Instituto Catalán de Oncología (ICO)
Hospital Universitari Germans Trias i Pujol
(Barcelona, España)

Óscar Arrieta, MD, MSc
Clínica de Oncología Torácica
y Laboratorio de Oncología Experimental
Instituto Nacional de Cancerología (INCAN)
(Ciudad de México, México)

CORRECCIÓN DE ESTILO

Lina Andrea Morales

ADMINISTRADOR PÁGINA WEB

Mauricio Lema, MD
Departamento de Hematología y Oncología
Clínica de Oncología Astorga
(Medellín, Colombia)

Producción editorial



Teléfonos: (571) 4255255, exts.: 1314, 1393, 1516
Av. calle 26 N° 82-70 Bogotá, D.C. - Colombia

Preprensa e impresión

LEGIS S.A.

Encuentre más información sobre
los temas publicados en este número en:
www.acho.com.co

Contáctenos para inquietudes y sugerencias en:
editor@acho.org o comite.editorial@acho.org

La *Revista Colombiana de Hematología y Oncología* es la publicación trimestral de la Asociación Colombiana de Hematología y Oncología (ACHO); los conceptos que en ella aparecen son responsabilidad exclusiva de los autores. Se prohíbe la reproducción total o parcial de su contenido sin la autorización previa por escrito del editor y bajo las sanciones establecidas en las leyes locales e internacionales, por cualquier medio o procedimiento, comprendidos la reprografía y el tratamiento informático, y la distribución de ejemplares mediante alquiler o préstamo público. La *Revista Colombiana de Hematología y Oncología* se encuentra incluida en Imbiomed (<<http://www.imbiomed.com>>).

REVISTA COLOMBIANA DE HEMATOLOGÍA Y ONCOLOGÍA

[Publicación oficial de la ACHO] SEPTIEMBRE DE 2012 • VOLUMEN 1 - NÚMERO 3

EDITORIALES

- 8** Cáncer, una celebridad mortal
Luis Eduardo Pino
- 10** Estudios de costo-efectividad en cáncer
Milton Lombana
- 13** Esplenectomía en hematología: ¿sigue teniendo lugar en el manejo de la trombocitopenia inmune primaria?
Carmen Rosales, Virginia Abello

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 15** Tratamiento de primera línea para el carcinoma de células renales metastásico en Colombia: un análisis de costo-efectividad
Javier Godoy, Andrés Felipe Cardona, Heidy Cáceres, Jorge Miguel Otero, Mauricio Luján, Diego Lopera, Javier Pacheco, Alfredo Spath, Hernán Carranza, Henry Becerra, Paul Gis
- 24** Esplenectomía para patologías hematológicas en la Fundación Santa Fe de Bogotá: caracterización y evaluación de múltiples desenlaces
Andrés Acevedo, Diana Cuervo, Guillermo Quintero, Myriam Rodríguez, Mónica Duarte, Martha Romero, Carlos Saavedra, Henry Becerra, Carlos Castro, Ricardo Nassar, Andrés Felipe Cardona

ARTÍCULO DE REVISIÓN

- 36** Progenitores de los tumores cerebrales
León Darío Ortiz, Andrés Felipe Cardona, Hernán Carranza, Henry Becerra, Carlos Vargas, Enrique Jiménez, Fernando Hakim, Nicolás Useche, Sonia Bermúdez, Jorge Otero, Pilar Archila, Silvia Serrano, Diana Torres, July Katherine Rodríguez, Orlando Ricaurte, Carmen Balañá, Alejandro Blanco

ARTÍCULO ESPECIAL

- 51** El papel de Notch, Hh y Wnt en el desarrollo del cáncer de pulmón
Andrés Felipe Cardona, Noemí Reguart

IMÁGENES EN HEMATOLOGÍA Y ONCOLOGÍA

- 63** Astrocitoma pilocítico juvenil con diseminación leptomeníngea
Andrés Felipe Cardona, Luis Eduardo Pino, Milton Lombana, León Darío Ortiz, Nicolás Useche

REPORTE DE CASO

- 65** Everolimus y astrocitoma subependimario de células gigantes con degeneración quística
Carlos Emilio Restrepo, Andrés Felipe Cardona, Luis Carlos Mayor, Enrique Jiménez
- 73** Hemofilia A adquirida: reporte de un caso y revisión de la literatura
Claudia Sossa, Sara Jiménez, Ángela Peña, Luis Salazar, William Castellanos, Julián Gelves

81 RECOMENDACIONES PARA LOS AUTORES

REVISTA COLOMBIANA DE HEMATOLOGÍA Y ONCOLOGÍA

[Publicación oficial de la ACHO] SEPTIEMBRE DE 2012 • VOLUMEN 1 - NÚMERO 3

EDITORIALS

- 8** Cancer, a mortal celebrity
Luis Eduardo Pino
- 10** Cost-effectiveness studies in cancer
Milton Lombana
- 13** Splenectomy in hematology: Does it still have a place in the management of primary immune thrombocytopenia?
Carmen Rosales, Virginia Abello

ORIGINAL ARTICLES

- 15** First line treatment for metastatic renal cell carcinoma in Colombia: a cost-effectiveness analysis
Javier Godoy, Andrés Felipe Cardona, Heidy Cáceres, Jorge Miguel Otero, Mauricio Luján, Diego Lopera, Javier Pacheco, Alfredo Spath, Hernán Carranza, Henry Becerra, Paul Gis
- 24** Splenectomy for hematologic diseases at Fundación Santa Fe de Bogotá: characterization and evaluation of multiple outcomes
Andrés Acevedo, Diana Cuervo, Guillermo Quintero, Myriam Rodríguez, Mónica Duarte, Martha Romero, Carlos Saavedra, Henry Becerra, Carlos Castro, Ricardo Nassar, Andrés Felipe Cardona

REVIEW ARTICLE

- 36** Stem cells in brain tumors
León Darío Ortiz, Andrés Felipe Cardona, Hernán Carranza, Henry Becerra, Carlos Vargas, Enrique Jiménez, Fernando Hakim, Nicolás Useche, Sonia Bermúdez, Jorge Otero, Pilar Archila, Silvia Serrano, Diana Torres, July Katherine Rodríguez, Orlando Ricaurte, Carmen Balañá, Alejandro Blanco

SPECIAL ARTICLE

- 51** Role of Notch, Hh and Wnt in lung cancer development
Andrés Felipe Cardona, Noemí Reguart

IMAGES IN HEMATOLOGY AND ONCOLOGY

- 63** Juvenile pilocytic astrocytoma with leptomeningeal dissemination
Andrés Felipe Cardona, Luis Eduardo Pino, Milton Lombana, León Darío Ortiz, Nicolás Useche

CASE REPORTS

- 65** Everolimus and subependymal giant cell astrocytoma with cystic degeneration
Carlos Emilio Restrepo, Andrés Felipe Cardona, Luis Carlos Mayor, Enrique Jiménez
- 73** Acquired haemophilia A: case report and review of the literature
Claudia Sossa, Sara Jiménez, Ángela Peña, Luis Salazar, William Castellanos, Julián Gelves

81 INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Cáncer, una celebridad mortal

Cancer, a mortal celebrity

► Luis Eduardo Pino¹

¹Departamento de Oncología y Hematología, Universidad Militar Nueva Granada, Hospital Militar Central (Bogotá, Colombia).

El cáncer ha generado noticia en los últimos meses debido a la pléyade de celebridades, especialmente de orden político, que han sido diagnosticadas con esta enfermedad. A lo largo de la historia, han sido muchos los casos que han generado controversia y anécdotas interesantes que confirman que el cáncer no es selectivo, siendo muchos los reyes o jefes de Estado que lo han padecido. La descripción histórica de estos eventos inició con el rey Jehoram de Israel, quien dominó la tierra de los beduinos entre los años 852 y 841 a. C.; a pesar de haber muerto por las heridas recibidas durante la batalla de Ramoth-Gilead contra Hazael, rey de los arameos, la revisión de su momia, encontrada en 1933, documentó una lesión tumoral del recto en la que se realizaron estudios de paleopatología.

Un caso similar fue el del rey Fernando I de Aragón (1431 a 1494), quien rigió Nápoles y sucumbió por una neoplasia del colon, en la que, curiosamente, se practicó un estudio de genotipificación, en el cual se encontró la mutación del oncogén KRAS. Fornaciari y colaboradores exploraron el posible origen de esta lesión, excluyendo como precursores potenciales los derivados N-nitrosos de los alimentos incluidos en la dieta occidental después de 1700¹. Otras hipótesis paleonutricionales sobre los regímenes de las cortes italianas del Renacimiento propusieron que el origen del cáncer de colon en aquella época pudo estar asociado al elevado consumo de carnes rojas con mínima cocción, al igual que a la obesidad².

Varios siglos después, el doctor Francois Carlo Antommarchi reportó los hallazgos de la necropsia de Napoleón Bonaparte (1769-1821), víctima fatal de un cáncer gástrico, diagnóstico que se puso en duda debido a la alta concentración de arsénico encontrado en su pelo, hallazgo que elevó las sospechas a favor de un homicidio por envenenamiento; sin embargo, Lugli y colaboradores realizaron un amplio análisis sobre el caso incluyendo los reportes originales de la autopsia y algunos documentos históricos, considerando que se trató de una lesión T₃M₁N₀ con un tumor cardinal

mayor de 10 centímetros sin aparente infiltración a las estructuras adyacentes. El descubrimiento más relevante de los datos históricos parece ser la infección por *Helicobacter pylori* más que una clara predisposición genética^{3,4}.

Federico III de Hohenzollern (1831-1888); emperador de Alemania y rey de Prusia, perteneció a una conservadora dinastía que rebatió con ideas liberales; por influencia de su madre, deseó la unificación alemana y la creación de una gran nación en Europa. Tras 27 años como heredero al trono, sucedió a su padre el 9 de marzo de 1888, no obstante, murió 99 días después a causa de un avanzado cáncer de laringe. Varios historiadores creen que este hecho puede considerarse como el cáncer que “cambió la historia”, debido a que su supervivencia pudo haber impedido el inicio de la Primera Guerra Mundial, promovida por su hijo Wilhelm II, quien desató la catástrofe en 1914.

Este caso es uno de los más interesantes dentro de la historiografía de las neoplasias famosas, dado que se le habían efectuado tres biopsias en 1887 que fueron diagnosticadas siempre como lesiones benignas por el patólogo más famoso de la época, el doctor Rudolf Virchow. Sin embargo, una cuarta muestra de un fragmento de la lesión expectorado por el paciente fue evaluada tres meses antes de la muerte por el doctor Wilhelm Waldeyer, quien diagnosticó un carcinoma escamoso, hecho confirmado en su autopsia, donde se encontró compromiso de los ganglios cervicales. Esta discrepancia diagnóstica ha sido una de las mayores controversias alrededor de la vida profesional de Virchow, hallazgo que permitió proponer una hipótesis en torno de un subtipo especial de carcinoma verrucoso híbrido primario del órgano fonatorio, uno de los diagnósticos más complejos incluso para el genio⁵.

Dos presidentes de los Estados Unidos, el general Ulysses Grant (1869-1885) y Grover Cleveland (1837-1908), fueron famosos por su adicción al tabaco y también padecieron carcinomas escamosos de cabeza y cuello. El primero murió con un tumor de la cavidad

oral en 1885 luego de una penosa agonía, y el segundo fue llevado a cirugía por el doctor William Keen en el Jefferson Medical College de Philadelphia, donde se le encontró un carcinoma verrucoso del paladar que fue curado. Años después, Sigmund Freud falleció por un carcinoma escamocelular de la cavidad oral luego de ser sometido a más de 30 intervenciones quirúrgicas, caso controvertido debido a que, al final de la enfermedad, le confesó a su médico y amigo personal el doctor Max Schur: "Recuerda nuestro acuerdo de no dejarme sufrir cuando llegara el momento, ahora esto es sólo tortura y no tiene sentido". El galeno, después de ponerse de acuerdo con Anna Freud, le administró morfina hasta su muerte, el 23 de septiembre de 1939, momento en el cual se configuró por primera vez la más famosa eutanasia de la historia^{6,7}.

Un caso más reciente fue el de Eva Duarte de Perón, a quien se diagnosticó un carcinoma escamoso de cérvix tratado con una histerectomía radical realizada por el doctor George Pack, intervención que no logró controlar la neoplasia que progresó rápidamente, requiriendo quimioterapia con un marcado deterioro funcional y pérdida de peso; la historia la dejó atrás en 1952, a la edad de 33 años, después de haber sido la primera persona en Argentina que recibió quimioterapia. Muchos son los casos recientes, varios de ellos presa del secreto, como el adenocarcinoma de próstata metastásico de François Mitterrand, quien gobernó Francia entre 1981 y 1995; el diagnóstico de la enfermedad fue revelado por el doctor Claude Gubler, su médico personal, quien fue condenado

a cuatro años de prisión y a la pérdida de su licencia médica por el incumplimiento del secreto profesional.

En paralelo, Ronald Reagan, presidente de los Estados Unidos entre 1981 y 1989, sufrió un carcinoma colorrectal al que le acompañó el cáncer de seno izquierdo de su esposa Nancy, encontrado en octubre de 1987. El diagnóstico se hizo mediante una mamografía convencional, por lo que se le propuso una cirugía conservadora que ella rechazó a favor de la mastectomía radical. Esta decisión influyó en la opinión pública de tal forma que aumentó significativamente el número de pruebas de cribado, inclinando la elección de muchas mujeres a favor de cirugías más agresivas⁸.

Hace poco, el presidente de Venezuela, Hugo Chávez, declaró que hay una conspiración para generar cáncer⁹, probablemente favorecida por múltiples actores que maquinan en conjunto; entre ellos, el tabaquismo, el consumo crónico de alcohol, la alimentación alta en oxidantes, las radiaciones ionizantes y el estrés. Todos estos son los factores que ocasionan 6.7 millones de muertes por año, que explican el diagnóstico de 11 millones de casos nuevos en el mismo período y que deja claro por qué 24.6 millones de seres humanos viven hoy con la enfermedad en el planeta. El cáncer no es una enfermedad exclusiva y se presenta en todos los estratos sociales, sin discriminar al poder. La responsabilidad de cada uno de estos personajes debe ser la de promover estrategias de prevención y diagnóstico temprano dirigidas a sus comunidades, disgregando el efecto mediático lejano a la realidad.

Referencias

1. Fornaciari G. Adenocarcinoma in the mummy of Ferrante I of Aragon, King of Naples (1431-1494). *Paleopathol Newsl.* 1993;(83):5-8.
2. Marchetti A, Pellegrini S, Bevilacqua G, Fornaciari G. K-RAS mutation in the tumour of Ferrante I of Aragon, King of Naples. *Lancet.* 1996;347(9010):1272.
3. Lugli A, Zlobec I, Singer G, Kopp Lugli A, Terracciano LM, Genta RM. Napoleon Bonaparte's gastric cancer: a clinicopathologic approach to staging, pathogenesis, and etiology. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol.* 2007;4(1):52-7.
4. Lugli A, Lugli AK, Horcic M. Napoleon's autopsy: new perspectives. *Hum Pathol.* 2005;36(4):320-4.
5. Lin JI. Virchow's pathological reports on Frederick III's cancer. *N Eng J Med.* 1984;311(19):1261-4.
6. Adeyemo WL. Sigmund Freud: smoking habit, oral cancer and euthanasia. *Niger J Med.* 2004;13(2):189-95.
7. Romm S. The oral cancer of Sigmund Freud. *Clin Plast Surg.* 1983;10(4):709-14.
8. Nattinger AB, Hoffmann RG, Howell-Pelz A, Goodwin JS. Effect of Nancy Reagan's mastectomy on choice of surgery for breast cancer by US women. *JAMA.* 1998;279(10):762-6.
9. <<http://www.taringa.net/posts/noticias/13628139.R/Para-Chavez-EEUU-le-dio-cancer-a-cristina.html>>.

Estudios de costo-efectividad en cáncer

Cost-effectiveness studies in cancer

► Milton Lombana¹

¹Departamento de Oncología y Hematología, Universidad Militar Nueva Granada, Hospital Militar Central (Bogotá, Colombia).

Los estudios de economía en salud se han convertido paulatinamente en un valioso recurso para apoyar la toma de decisiones, especialmente, de las entidades gubernamentales y administrativas. Es considerable el incremento de la producción literaria al respecto durante las últimas cuatro décadas, liderada a nivel mundial por las publicaciones de los Estados Unidos, seguidas por el Reino Unido y Canadá¹.

En Latinoamérica, son Brasil, Argentina y México los países que dominan la producción de estudios sobre evaluaciones económicas en salud; Colombia ocupa el quinto lugar, con una participación del 6%².

Una circunstancia especial ocurre cuando se deben tomar decisiones administrativas sobre enfermedades de baja prevalencia, eventos que muchas veces conllevan un alto costo y para los cuales es infrecuente encontrar análisis relacionados con la carga de la enfermedad y estudios de economía en salud; este hecho resalta la necesidad de conocer información sobre dichas condiciones. El carcinoma de células renales no se encuentra dentro de las cinco primeras causas de incidencia y mortalidad por cáncer; no obstante, en la actualidad, su diagnóstico y tratamiento comporta un alto costo económico, que, para los Estados Unidos, está entre 0.6 a 5.2 billones de dólares/año, lo que se traduce en una inversión por paciente que oscila entre 16.488 a 43.805 dólares³.

Chabot y colaboradores demostraron en esta enfermedad que el análisis de costo-efectividad puede brindar información importante para los pagadores de cualquier sistema sanitario, particularmente, cuando se considera la totalidad de la información más allá de los parámetros aislados, como la razón de costo-efectividad incrementada (*incremental cost effectiveness ratio, ICER*), que implica limitaciones al momento de analizar enfermedades fatales tratadas con medicamentos de elevado costo⁴.

En esta edición de la *Revista Colombiana de Hematología y Oncología*, Godoy y colaboradores⁵ nos

presentan los resultados de un estudio de costo-efectividad sobre el tratamiento farmacológico de primera línea para el carcinoma de células renales en estado avanzado, siguiendo la metodología de un modelo de Markov, en el que se exploraron los resultados de los años de vida libres de progresión (o *progression-free life years, PFLY*) y los años de vida ganados (*years of life gained, LYG*) como desenlaces de efectividad, usando una perspectiva del tercer pagador para el Sistema General de Seguridad Social en Salud de Colombia.

De manera no sorprendente, sus resultados son consistentes con al menos otros ocho estudios económicos que evalúan este mismo interrogante y para los cuales, al igual que en el estudio de la referencia⁵, el sunitinib parece ser la opción más costo-efectiva en dicho escenario⁶⁻¹³. Sin embargo, es importante hacer notar que, al tomar como medida comparativa y base de eficacia el desenlace de supervivencia libre de progresión de los estudios clínicos primarios, parece improbable obtener un resultado diferente independiente de la población evaluada. Esto lo demuestra la direccionalidad y magnitud similares en cada uno de los reportes económicos realizados; no obstante, es la confirmación de la hipótesis con resultados como este lo que contribuye gratamente a disminuir la incertidumbre siempre presente en la toma de decisiones en nuestro entorno.

El análisis de los autores no consideró la medición de años de vida ganados con calidad (o *quality adjusted life years, QALY*) dentro de sus desenlaces, un aspecto de especial relevancia en cáncer, donde se conoce la toxicidad relacionada con la terapia farmacológica para estas enfermedades. En este sentido, el uso de los inhibidores de la tirosina-quinasa del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF, por su sigla en inglés) ha demostrado un variado grupo de eventos adversos que suelen comprometer el estado funcional del paciente por la astenia y, en algunos casos, por toxicidad fatal secundaria.

Para el sunitinib como parte esencial del tratamiento del carcinoma renal, la toxicidad grado 5 (*Common Toxicity Criteria version 4.0*, National Cancer Institute) podría estar incrementada de forma relativa en un 40% cuando se compara con el interferón, diferencia que no fue estadísticamente significativa, según los resultados de un metaanálisis reciente¹⁴, que no se incluyó en el análisis realizado por Godoy y colaboradores. A pesar de que es poco probable que dicha información cambie el sentido de sus resultados de manera relevante, estos datos deben llamar la atención, y, en lo posible, deberían incluirse en los estudios de economía en salud que evalúan terapias dirigidas.

Si bien el análisis de supervivencia global expuesto por los autores es difícil de valorar cuando se toman datos de los ensayos clínicos originales donde existe entrecruzamiento entre los grupos en comparación, en especial, cuando los resultados estimados derivan de una evaluación por intención de tratar, actualmente existen métodos estadísticos avanzados, como el de probabilidad inversa ponderada, que son potencialmente útiles para evaluar situaciones como esta, específicamente si se desea controlar la censura por entrecruzamiento, pero también para el análisis de supervivencia con QALY^{15,16}.

Esta información es muy útil para el clínico y los pacientes, particularmente en la actualidad cercana, aunque ya se cuenta con otras opciones de manejo para escenarios similares en los que se han hecho escasos estudios clínicos que evalúen cabeza a cabeza medicamentos

como el temsirolimus y el pazopanib¹⁷. Es poco probable que otros ensayos clínicos fase III sean considerados para la aprobación de estos medicamentos.

Finalmente, si bien la comparación demostró que el sunitinib es la opción preferida *versus* una terapia poco efectiva, como el interferón, y otras, como el bevacizumab más interferón y el sorafenib (medicamento con menor solidez en estudios clínicos de primera línea), queda el gran interrogante de qué umbral económico es el más apropiado para aceptar el precio impuesto por las compañías farmacéuticas para este tipo de medicamentos en un país como Colombia. Lo anterior si consideramos lo clínica y éticamente apropiado para cada individuo, pero también con una perspectiva en la que se valore el equilibrio social.

La obtención de este punto ha sido orientada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y por diferentes grupos científicos que han hecho recomendaciones para mejorar la conducción de estudios económicos en salud¹⁸. En nuestro país, debemos llamar firmemente la atención de que esto nunca debe confundirse con la negación por parte de las aseguradoras en salud que brindan tratamientos que han demostrado ser efectivos para los pacientes; por el contrario, se debe intentar regular de una manera más equitativa, por parte del gobierno, los precios excesivos de las nuevas intervenciones dirigidas para controlar el cáncer. La participación activa de grupos y sociedades científicas con estudios como este son, sin duda, un excelente paso inicial hacia este horizonte necesario.

Referencias

1. Wagstaff A, Culyer AJ. Four decades of health economics through a bibliometric lens. *J Health Econ*. 2012;31(2):406-39.
2. Augustovski F, Iglesias C, Manca A, Drummond M, Rubinstein A, Martín SG. Barriers to generalizability of health economic evaluations in Latin America and the Caribbean region. *Pharmacoeconomics*. 2009;27(11):919-29.
3. Shih YC, Chien CR, Xu Y, Pan IW, Smith GL, Buchholz TA. Economic burden of renal cell carcinoma: Part I--an updated review. *Pharmacoeconomics*. 2011;29(4):315-29.
4. Chabot I, Rocchi A. How do cost-effectiveness analyses inform reimbursement decisions for oncology medicines in Canada? The example of sunitinib for first-line treatment of metastatic renal cell carcinoma. *Value Health*. 2010;13(6):837-45.
5. Godoy J, Cardona AF, Cáceres H, Otero JM, Luján M, Lopera D, et al. First line treatment for metastatic renal cell carcinoma in Colombia: a cost-effectiveness analysis. (In press).
6. Paz-Ares L, Del Muro J, Grande E, Díaz S. A cost-effectiveness analysis of sunitinib in patients with metastatic renal cell carcinoma intolerant to or experiencing disease progression on immunotherapy: perspective of the Spanish National Health System. *J Clin Pharm Ther*. 2010;35(4):429-38.
7. Coon JT, Hoyle M, Green C, Liu Z, Welch K, Moxham T, et al. Bevacizumab, sorafenib tosylate, sunitinib and temsirolimus for renal cell carcinoma: a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess*. 2010;14(2):1-184.
8. Duh MS, Dial E, Choueiri T, Fournier AA, Antras L, Rodermund D, et al. Cost implications of IV versus oral anti-angiogenesis therapies in patients with advanced renal cell carcinoma: retrospective claims database analysis. *Curr Med Res Opin*. 2009;25(8):2081-90.
9. Aller E, Maroto P, Kreif N, González Larriba JL, López-Brea M, Castellano D, et al. Cost-effectiveness evaluation of sunitinib as

first-line targeted therapy for metastatic renal cell carcinoma in Spain. *Clin Transl Oncol*. 2011;13(12):869-77.

10. Choueiri T, McDermott D, Duh M, Sarda S, Neary M, Oh WK. Costs associated with angiogenesis inhibitor therapies for metastatic renal cell carcinoma in clinical practice: Results from a medical chart review study. *Urol Oncol*. 2010. [Epub ahead of print].
11. Wu B, Dong B, Xu Y, Zhang Q, Shen J, Chen H, et al. Economic evaluation of first-line treatments for metastatic renal cell carcinoma: a cost effectiveness analysis in a health resource-limited setting. *PLoS One*. 2012;7(3):e32530.
12. Benedict A, Figlin RA, Sandström P, Harmenberg U, Ullén A, Charbonneau C, et al. Economic evaluation of new targeted therapies for the first-line treatment of patients with metastatic renal cell carcinoma. *BJU Int*. 2011;108(5):665-72.
13. Remák E, Charbonneau C, Négrier S, Kim S, Motzer RJ. Economic evaluation of sunitinib malate for the first-line treatment of metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 2008;26(24):3995-4000.
14. Schutz FA, Je Y, Richards CJ, Choueiri TK. Meta-analysis of randomized controlled trials for the incidence and risk of treatment-related mortality in patients with cancer treated with vascular endothelial growth factor tyrosine kinase inhibitors. *J Clin Oncol*. 2012;30(8):871-7.
15. Rimawi M, Hilsenbeck SG. Making sense of clinical trial data: is inverse probability of censoring weighted analysis the answer to crossover bias? *J Clin Oncol*. 2012;30(4):453-8.
16. Alemao E, Rajagopalan S, Yang S, Curiel RE, Purvis J, Al MJ. Inverse probability weighting to control for censoring in a post hoc analysis of quality-adjusted survival data from a clinical trial of temsirolimus for renal cell carcinoma. *J Med Econ*. 2011;14(2):245-52.
17. Mansley EC, Elbasha EH, Teutsch SM, Berger ML. The decision to conduct a head-to-head comparative trial: a game-theoretic analysis. *Med Decis Making*. 2007;27(4):364-79.
18. Hay JW, Smeeding J, Carroll NV, Drummond M, Garrison LP, Mansley EC, et al. Good research practices for measuring drug costs in cost effectiveness analyses: issues and recommendations: the ISPOR Drug Cost Task Force Report--Part I. *Value Health*. 2010;13(1):3-7.

Esplenectomía en hematología: ¿sigue teniendo lugar en el manejo de la trombocitopenia inmune primaria?

Splenectomy in hematology: Does it still have a place in the management of primary immune thrombocytopenia?

► Carmen Rosales^{1,2}, Virginia Abello^{1,2}

¹Departamento de Hematología y Unidad de Trasplante de Médula Ósea, Clínica de Marly (Bogotá, Colombia).
²Hospital de San José, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud (FUCS) (Bogotá, Colombia).

La esplenectomía hace parte del armamentario diagnóstico y terapéutico de un sinnúmero de patologías hematológicas. A través del tiempo, sus indicaciones han variado, más con base en el sentido común y en la práctica clínica rutinaria que sobre la mejor evidencia. Estos cambios también han sido motivados por el progreso en el manejo de las enfermedades malignas y no malignas, por la introducción de nuevas estrategias diagnósticas y por la modificación de la morbimortalidad relacionada con el procedimiento quirúrgico. Desde el punto de vista diagnóstico, la esplenectomía es de especial importancia en los síndromes linfoproliferativos, donde en algunas ocasiones la esplenomegalia es la principal manifestación de la enfermedad¹.

Tabla 1. Indicaciones de esplenectomía en enfermedades hematológicas¹

Trombocitopenia inmune primaria crónica
Trombocitopenia relacionada a VIH
Esferocitosis hereditaria
Enfermedad de Hodgkin
Anemia hemolítica autoinmune
Linfoma no Hodgkin
Leucemia linfóide crónica
Desórdenes mieloproliferativos crónicos
Leucemia de células peludas
Anemia de células falciformes
Beta-talasemia

La trombocitopenia inmune primaria (TIP) es la indicación más frecuente de esplenectomía terapéutica en adultos, intervención que ha sido el pilar de manejo de esta entidad desde hace más de 50 años, incluso antes de la introducción de los esteroides como terapia de primera línea. Después del advenimiento de los corticoides, la cirugía se reserva para pacientes refractarios o en quienes dependen de ellos por más de seis meses para mantener un recuento plaquetario seguro. En una revisión

En este número, Acevedo y colaboradores revisan una serie de 30 pacientes esplenectomizados por patologías hematológicas neoplásicas o no (en un 60% de ellos la indicación fue precisamente esa).

La trombocitopenia

sistemática publicada en el año 2004, se estableció que la tasa de remisión completa (> 150.000 plaquetas mantenidas sin tratamiento adicional) en 2.633 pacientes adultos fue del 66% y la tasa de remisión completa o parcial (> 30 o 50.000 plaquetas, por lo menos por 30 días, con o sin otro tratamiento) fue del 88%. La mediana de recaída en 48 estudios que evaluaron este desenlace fue del 15% (rango 0-51%) con una mediana de seguimiento de 33 meses². En línea con estos resultados en la serie que nos ocupa, la respuesta de los pacientes con TIP a la esplenectomía fue del 80%, sin ninguna recaída.

A pesar de los resultados relativamente buenos de la esplenectomía, han aparecido otros tratamientos que se pueden considerar hoy en día en una segunda línea, y tanto los médicos como algunos pacientes pueden sentirse incómodos ante la opción de un tratamiento quirúrgico, así la tasa de complicaciones sea relativamente baja (12.9% con laparotomía y 9.6% con laparoscopia) y la mortalidad menor al 1%²; en esta serie, no hubo ninguna muerte temprana relacionada con el procedimiento.

Además de las tasas de respuesta, al decidir sobre la segunda línea, se deben tener en cuenta otras variables, como los eventos adversos, el costo, el impacto en la calidad de vida y las preferencias del paciente. En segunda línea, se consideraban hasta el año 2010 la azatioprina, vincristina, dapsona, danazol, micofenolato mofetil y ciclofosfamida; cada uno de ellos con un perfil de seguridad y eficacia variable. La investigación con estos agentes en esta indicación es escasa, por lo cual es difícil hacer recomendaciones de uno sobre el otro o acerca del orden en que se deben utilizar. En la mayoría de los casos, la elección se define por la experiencia

personal del hematólogo. En los últimos años, dos nuevos tipos de agentes han despertado gran interés en la comunidad científica: los agonistas del receptor de la trombopoyetina (romiplostin y eltrombopag) que han demostrado ser efectivos en pacientes con trombocitopenia persistente esplenectomizados o no. Las tasas de respuesta plaquetaria con estos agentes oscilan entre el 70% y 80%, requiriendo su uso crónico, y, en algunos casos, al suspenderlos, la trombocitopenia puede no solo reaparecer, sino empeorar. En general, son bien tolerados, siendo el aumento de las transaminasas y de la trama reticulínica en la médula ósea los eventos adversos más significativos, pero con una relevancia clínica que está por establecerse³⁻⁵.

El otro agente que ha despertado interés es el rituximab; una revisión sistemática de la literatura dirigida hacia este tema mostró una respuesta global del 62.5%, resultado que puede ser duradero. Sin embargo, después de un año, solo el 18% al 35% de los pacientes mantiene el beneficio, aunque no todos requieren una nueva intervención⁶. Se han reportado complicaciones severas que amenazan la vida en el

3.3% de los pacientes, con una mortalidad estimada cercana al 3%. Recientemente, se han reportado casos de leucoencefalopatía multifocal como complicación del uso de rituximab.

En conclusión, hay una gran cantidad de agentes que pueden ser utilizados en segunda línea y no hay ninguna evidencia que permita guiar la secuencia de tratamiento. La esplenectomía continúa siendo la única alternativa que permite ofrecer respuestas completas duraderas sin tratamiento en una proporción significativa de pacientes. Ante lo escaso de la información disponible, esta serie de 30 pacientes, en un solo centro, representa una descripción valiosa de la esplenectomía en indicaciones hematológicas en nuestro medio. Aunque se trata de un grupo heterogéneo de personas, con indicaciones y patologías diferentes, incluye un número significativo de pacientes con TIP, en los cuales se confirma una efectividad y seguridad similar a lo reportado en la literatura mundial, que puede ser útil en el momento de decidir la segunda línea de tratamiento en un paciente con una respuesta inadecuada a corticoides.

Referencias

1. Bacarani U, Terrosu G, Donini A, Zaja F, Bresadola F, Bacarani M. Splenectomy in hematology. Current practice and new perspectives. *Haematologica*. 1999;84(5):431-6.
2. Kojouri K, Vesely SK, Terrell DR, George JN. Splenectomy for adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura: a systematic review to assess long-term platelet count responses, prediction of response, and surgical complications. *Blood*. 2004;104(9):2623-34.
3. Kuter DJ, Bussel JB, Lyons RM, Pullarkat V, Gernsheimer TB, Senecal FM, et al. Efficacy of romiplostim in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura: a double-blind randomised controlled trial. *Lancet*. 2008;371(9610):395-403.
4. Bussel JB, Kuter DJ, Pullarkat V, Lyons RM, Guo M, Nichol JL. Safety and efficacy of long-term treatment with romiplostim in thrombocytopenic patients with chronic ITP. *Blood*. 2009;113(10):2161-71.
5. Bussel JB, Provan D, Shamsi T, Cheng G, Psaila B, Kovaleva L, et al. Effect of eltrombopag on platelet counts and bleeding during treatment of chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2009;373(9664):641-8.
6. Arnold DM, Dentali F, Crowther MA, Meyer RM, Cook RJ, Sigouin C, et al. Systematic review: efficacy and safety of rituximab for adults with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Ann Intern Med*. 2007;146(1):25-33.

First line treatment for metastatic renal cell carcinoma in Colombia: a cost-effectiveness analysis[§]

Tratamiento de primera línea para el carcinoma de células renales metastásico en Colombia: un análisis de costo-efectividad

► Javier Godoy¹, Andrés Felipe Cardona²⁻⁴, Heidy Cáceres⁵, Jorge Miguel Otero^{2,3}, Mauricio Luján^{6,7}, Diego Lopera⁸, Javier Pacheco⁹, Alfredo Spath⁵, Hernán Carranza^{2,3}, Henry Becerra², Paul Gis¹⁰

¹Hematology and Oncology Department, Hospital Militar Central (Bogotá, Colombia).

²Clinical and Translational Oncology Group, Institute of Oncology, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

³Foundation for Clinical and Translational Cancer Research (FICMAC); associated researcher ONCOLGroup.

⁴Cochrane Colombian Group (Bogotá, Colombia).

⁵Pfizer Medical Division (Bogotá, Colombia).

⁶Medical Oncology Department, Clínica de Oncología Astorga (Medellín, Colombia).

⁷Medical Faculty, Universidad Pontificia Bolivariana (Medellín, Colombia).

⁸Medical Oncology Department, Oncólogos de Occidente (Manizales, Colombia).

⁹Medical Oncology Department, Hospital de San José, Fundación Universitaria Ciencias de la Salud (Bogotá, Colombia).

¹⁰Medical Faculty, Universidad Nueva Granada (Bogotá, Colombia).

Abstract

Objective: To perform a local study based on an economic evaluation of first-line treatment of metastatic renal cell carcinoma in Colombia, since 2006-2007.

Methods: We developed a Markov model using 6-week cycles to evaluate the cost-effectiveness of 4 interventions (IFN, sunitinib, bevacizumab + IFN, sorafenib) used as standard first-line treatment for mRCC in Colombia. The model used the third-party payer perspective and a 10-year time-line with all patients continuing with active treatment until progression, when it became acceptable to proceed to a second-line treatment or best supportive care (BSC).

Results: Incremental analysis indicated a difference of US\$21.796 in the average total cost of treatment when sunitinib was compared to IFN. Opposite, comparing sorafenib and bevacizumab + IFN to sunitinib demonstrated that the average total cost was less for sunitinib by US\$25.857 and US\$110.947 respectively. The ratios of incremental cost-effectiveness by life years gained (LYG) demonstrated sunitinib's cost saving compared to sorafenib and the combination of bevacizumab + IFN, and an average by LYG of US\$50.564,25 compared to IFN. Uncertainty is principally about sample size analyzed for Colombian population data.

Conclusions: Sunitinib was the most cost-effective option as first-line treatment for mRCC patients in Colombia (2006-2007), compared with the other available options. Current pharmacoeconomic data is important to improve knowledge and define the best sequence model to treat this disease in our country.

Key words: Renal cell carcinoma, cost effectiveness analysis, Colombia, metastatic, targeted therapy.

Resumen

Objetivo: Realizar un estudio local para tener una base que permita evaluar económicamente el tratamiento de primera línea para el carcinoma de células renales metastásico en Colombia considerando el periodo entre 2006 y 2007.

Métodos: Se desarrolló un modelo con ciclos de 6 semanas para evaluar la costo-efectividad de diversas intervenciones (IFN, sunitinib, bevacizumab + IFN, sorafenib) utilizadas como agentes de primera línea para el tratamiento del carcinoma de células renales metastásico. El modelo utilizó la perspectiva del tercer pagador y una proyección de 10 años considerando que todos los pacientes continuaron con el tratamiento activo hasta la progresión como momento en el cual se consideró aceptable proceder a una segunda línea o al mejor tratamiento de soporte.

Resultados: El análisis incremental indicó una diferencia de US\$21.796 para el costo medio total del tratamiento cuando se comparó sunitinib contra interferón. Cuando se comparó sorafenib y bevacizumab + IFN con el sunitinib se demostró que el costo promedio total del sunitinib fue menor por US\$25.857 y US\$110.947 respecto de las otras dos intervenciones, respectivamente. Las razones de costo efectividad incremental por año de vida ganado (AVG) demostraron un ahorro con el sunitinib en comparación con el sorafenib y con la combinación de bevacizumab + IFN, obteniendo en promedio un AVG de

DATOS DE CONTACTO

Correspondence: Andrés Felipe Cardona, MD, MSc, PhD². Clinical and Translational Oncology Group, Institute of Oncology, Fundación Santa Fe de Bogotá (Colombia). Phone: (+571) 603 0303, ext. 5227; e-mail: a_cardonaz@yahoo.com.

Conflict of interest: This study was supported by an educational grant from Pfizer Colombia (Bogotá, Colombia).

Received: January 25, 2011. **Approved:** March 21, 2012.

[§]This study was presented on platform during the XVII Colombian Cancer Congress (Cancer 2008) and as poster (different results) in ISPOR (International Society For Pharmacoeconomics and Outcomes Research) 2009, 2010, 2011.

US\$50.564,25 contra el IFN. La incertidumbre se dio principalmente por el tamaño de la muestra analizada que se extrapoló a la población colombiana.

Conclusiones: El sunitinib fue la opción más costo efectiva como tratamiento de primera línea para los pacientes con carcinoma de células renales metastásico en Colombia (2006-2007), en comparación con las otras opciones disponibles. La evaluación fármaco económica es importante para el conocimiento que permita definir el mejor modelo de secuencia para el tratamiento de esta enfermedad en nuestro país.

Palabras clave: Carcinoma de células renales, análisis de costo-efectividad, Colombia, metástasis, terapia dirigida.

Introduction

Renal cell carcinoma (RCC) represents 90% of the tumours originating in the kidneys and 3% of the malign disease in adults¹. Despite it being a rare entity, its incidence has increased 126% since 1950^{2,3}. This disease occurs more frequently in males between the 5th and 7th decade of life, a third part of the cases are diagnosed with metastases, and 50% with early lesions die as a result of progression of the disease⁴. Currently, the mean overall survival (OS) without treatment varies between 6 and 12 months, and the survival at 2 years is around 10%⁵.

The National Cancer Institute of the USA (US NCI) predicts 51,190 new cases of RCC for the year 2007, of which 12,890 will die of the disease within the year⁶. As well, it is estimated that the losses attributable to RCC for the year 2004 were 192.800 years of life, which translates as a mean of 15.7 years of life lost per individual⁷. There is no information, as yet, on the epidemiologic profile of RCC in Colombia, but the behaviour of the disease in other Latin America countries differs from the data previously reported^{8,9}. The incidence is greater in Uruguay and in Brazil where the frequency is reported as 10.6 cases per 100,000/inhabitants/year. The presentation of the disease appears to be similar among males and females and, in some populations the survival at 5 years exceeds 16%¹⁰.

Chemotherapy and radiotherapy have demonstrated marginal efficacy on metastatic renal cell carcinoma (mRCC) and immunotherapy modestly improves long-term survival in selected patients¹¹. The absence of effective interventions and the increasing knowledge of tumour molecular biology have stimulated the search for new alternative therapies centred on the genomic evolution of the disease. It is well documented that 80% of clear cell tumours have inactivated von Hippel-Lindau gene resulting from deletion, mutation or methylation and, consequently, inhibitors of multiple tyrosine-kinase

inhibitors that delay angiogenesis, tumour increase and metastases have been included in standard clinical practice¹².

There have been 3 new drugs introduced for the treatment of mRCC within the National Health Service in Colombia [*Sistema General de Seguridad Social en Salud (SGSSS)*] since 2006. These are: Sunitinib (Sutent®; Pfizer) an inhibitor of multiple kinases that block the VEGFR/PDGFR (Vascular Endothelial Growth Factor/Platelet Derived Growth Factor Receptors); Sorafenib (Nexavar®; Bayer/Onyx) another selective inhibitor that blocks the Raf pathway and the PDGFR; Bevacizumab (Avastin®; Roche Pharmaceuticals) a monoclonal agent that binds to the circulating VEGF¹³. However, the availability of these products on the market implies a radical modification of the health costs for chronic disease cover, at the local and national level¹⁴.

According to the estimations of the International Agency for Research in Cancer (IARC) during the year 2002 there were 70.750 new cases of cancer in Colombia, 38.648 females and 32.102 males. The numbers of resultant deaths registered for the year were 28.629 (13.987 and 14.642 in males and females, respectively)¹⁵. In 1960, malignant tumours represented the 6th highest place at 3.7% of the total deaths. By the year 2000, this had risen to 3rd place following cardiovascular disease and violent death, and represented 14.7% of all deaths^{16,17}. While developed countries include estimations of chronic diseases in the load on their health systems, in Colombia unfortunately, the system of monitoring only provides a rough approximation of medical interventions in cancer; in the year 2002, the estimate was US\$3.890 millions (*unpublished data*)¹⁵.

A study that used data from the National Inpatient Sample (NIS) of the Health Care Cost Utilization Project (HCUP) of the USA calculated that, for the year 2002, the costs attributable to intra-hospital treatment for mRCC was US\$418 millions¹⁸. Extrapolating these results to the reality of Colombia, it is possible to deduce

that, for the same period, mRCC represented approximately 4% of the resources destined for the management of cancer; a value that is very high especially if we consider that the renal tumours are not within the top 10 causes of cancer in our country¹⁶.

Recently, an economic evaluation was conducted in Colombia comparing sunitinib versus interferon-alfa (IFN; Intron®) as first-line treatment for mRCC¹⁸. The study established a cost of < US\$7.105 in the sunitinib treatment arm and an effectiveness of > 0.23 years of life free of disease progression (or progression-free life years; PFLY), an increase of 0.05 years of life gained (LYG) and an increase of 0.07 years of quality-adjusted life gained (or quality adjusted life years; QALY).

The present study had as its objective an evaluation of the cost-effectiveness (CE) of the first-line treatments used for the management of mRCC in Colombia.

Methods

Study design

We developed a Markov model to evaluate CE of sunitinib, IFN, sorafenib and the combination of bevacizumab + IFN as first-line treatments of patients with mRCC in Colombia. The effectiveness outcomes were measured as PFLY and LY. The perspective used was that of the 3rd party payer i.e. the State Social Security [*Sistema General de Seguridad Social en Salud (SGSSS)*]. The base case assessment was with a time horizon of 10 years.

Effectiveness

A structured search of the best available evidence for each of the comparators was performed according to the criteria proposed by Lefebvre et al.¹⁹. Subsequently, two independent pairs of investigators selected the published clinical studies most representative of each scenario. All studies were randomised and controlled with IFN^{1,20-24} except one for sorafenib, that was randomized to placebo³⁴ (annex 1).

Effectiveness modelling

Kaplan-Meier curves were used as reference for overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) of IFN obtained from the study of Motzer et al.^{1,20}. To estimate long-term survival (10 years), we used the Weibull distribution function²⁵. Evaluation of the new drugs in the model was by using estimations of hazard

ratios (HR) for the OS and PFS derived from data reported in published clinical studies^{1,20-24} (annex 2).

Population

The subjects considered in the model have the characteristics of those included in the clinical studies described mRCC confirmed histologically, with lesions measurable by images, and functional status evaluable on the Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) scale. Information of Colombia was available for 24 patients treated in Manizales, Pereira, Medellín and Bogotá.

Structure of the model

The model was developed using Microsoft Excel® to simulate disease progression up to 10 years in the base case and, as well, to determine the outcomes in terms of PFLY and LYG over time. The Markov model used cycles of 6 weeks to adjust to the duration of treatment recommended for sunitinib (4 weeks of treatment and 2 weeks of rest). The rest period of the comparators were expressed in cycles of equal duration. Figure 1 summarizes the stages considered in the Markov model for mRCC. The assumption was that all the patients commenced with active treatment, without clinical nor image evidence of progression. This implies that the patients continued with active treatment until progression, at which time it was accepted that a second-line treatment or palliative support would be implemented. All the patients who progressed after a second-line received support treatment and were considered that death could occur at any of the transition points. Death related with the cancer and to other causes were tracked separately assuming that the proportion of deaths due to the tumour were constant over time. The probabilities of transition varied with time and were determined by the survival curves already described.

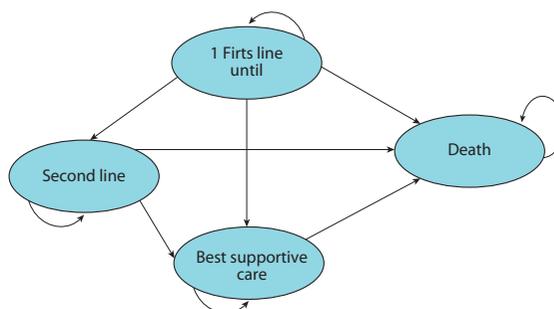


Figure 1. Markov model used in the study.

The analysis also considered reduction and adjustment of doses and interruptions of the cycles due to toxicity, or from other causes, as well as the treatment of the severe adverse events (classified as grade 3 or 4 on the *Common Toxicity Criteria* of the *National Cancer Institute* of the USA) related to the medication under study. The significant use of resources incurred for the adverse event management and the frequencies were derived from the reported clinical studies. The details of the adverse events included in the model are presented in annex 3.

The efficacy of the second-line treatment was not taken into account in the model and only an estimation of the mean costs for each treatment arm was considered. Internal consistency of the analyses was verified and the validity of the calculations was assured by assessing the changes due to introduction of extreme values of the variables. External consistency was assessed by comparing the projections of survival with the observations of the study published by Motzer et al.²⁰.

Costs

Sources of information on the health services used in Colombia, and their costs

The costs included in the model were those attributable to routine follow-up of the patients, the acquisition of the medications, the costs of the treatment of significant adverse events, the costs of disease progression, and the costs of palliative support in Colombia. Given that the model reflects the perspective of the 3rd payer (the Health Service), this does not include the costs to the patients or to Society resulting from the loss of productivity or

of premature death. Information on the frequency of use and units of costs of the health services consumed for the care of the patients with mRCC in our environment were derived from a series of 24 cases treated in Manizales, Pereira, Medellín and Bogotá.

Five investigators reviewed the clinical histories and registered the number and the characteristics of the health-care provision (outpatient clinic, hospitalizations, laboratory tests, images, surgery, therapies and other procedures) during the clinical evolution of the metastatic disease, the active treatments employed for the control of metastases (first- and second-line), the therapies used for palliative care and for the management of adverse events. The information was complemented with data from a structured questionnaire soliciting information from 14 clinical oncologists in 10 cities in the country, corresponding to 10% of the specialists registered (table 1).

The data on costs of the services consumed were solicited from an external consultant (Delta-A-salud) and corresponded to the mean value charged to the HMO calculated from 33 sources of information representative of the country’s market. The costs of the medications were derived from prices on sale to the public via the Colombian Anti-cancer League [*Liga Colombiana de Lucha Contra el Cáncer (LCLC)*]. The costs and outcomes presented after the 1st year in the model were discounted at an annual rate of 3%.

Finally, uncertainty in the parameters of effectiveness, frequencies and costs of services in the different phases were evaluated in a probabilistic sensitivity analysis using a second degree Monte Carlo simulation

Table 1. Variables included in the model

Variable		Sunitinib		Sorafenib	INF-α		Bev. + IFN-α
Patients receiving second-line treatment ¹	BSC	52%		52%	52%		52%
	Second-line treatment	48%		48%	48%		48%
Second-line treatment ¹	IFN-α or IL ²	3.80%		5.60%	1.30%		6.30%
	Sunitinib	0.00%		71.10%	62.90%		75.00%
	Sorafenib	72.50%		0.00%	12.30%		18.70%
	Bev+IFN-α	23.70%		23.30%	23.50%		0.00%
Drug cost in US\$ 2007 ²	Cost	Sunitinib (tablets)	Sunitinib (tablets)	Sorafenib (tablets)	INF-α (Pen 30MU)		Bevacizumab (vials)
		25 mg	50 mg	200 mg	\$732		100 mg
		\$1.886	\$3.932	\$3.204			\$651
		12.5 mg					400 mg not available
		\$943					
						+ IFN	
	Dose	37.5 mg	50 mg	400 mg	3-6-9 MU (progressive)	9 MU	10 mg/kg
Cycle cost (6 weeks)	\$2.829	\$3.932	\$9.611	\$3.662	\$4.394	\$16.108	

BSC: best supportive care

Pen: multidose pen 30 million IU

¹ Questionnaire administered to 14 clinical oncologists in 10 cities in Colombia.

² Prices to the Colombian Anti-cancer League [Liga Colombiana de Lucha contra el Cáncer (LCLC)].

(5.000 interactions). Subsequently, the distributions of probability were described in which the parameters were adjusted: for the probability of change or adjustment of dose using a beta distribution; for the hazard risk using a log normal distribution; for the frequency of use of resources and their costs using a gamma distribution; and for the parameters without information of variability using a standard deviation of the mean of 10%. Additionally, univariate deterministic analysis of sensitivity was performed applying changes of ±20% based on the variation in the market price of the medications which constitute a very important item in the cost structure. From this last factor, we identified the variables that most affected the outcomes. All the costs are presented in US\$ (where US\$1 = COL\$2.250).

Results

Applying the Markov model, the mean accumulated cost per patient was within the range of US\$46.440 and US\$179.184 for IFN and the bevacizumab + IFN combination, respectively. It is important to note that bevacizumab have not been explored alone for the treatment of mRCC, and with other combination instead IFN. Table 1 summarises the mean values of the costs and effectiveness of the treatment of the patients with mRCC in Colombia. Similarly, examining the distribution of the costs for each phase, between 83% and 94% is the accumulated proportion attributable to the costs of the medications used in first- and second-line treatments for mRCC (figure 2). These costs are followed in frequency by the costs related to the integrated palliative support (4% to 12%) and, then, by the remaining phases which represent < 5% of the total accumulated cost for each one of the sequences of intervention.

The base case analysis demonstrated a difference of US\$21.797 in the mean total cost of the treatment of 1 patient in the time-horizon of 10 years with sunitinib vs. IFN, while in the comparison of sorafenib and the

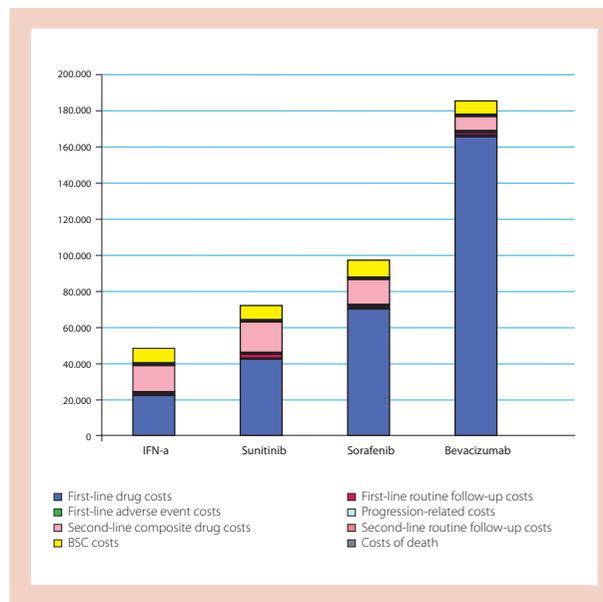


Figure 2. Cost break-down by phase (US\$ at 2009 prices).

bevacizumab + IFN combination the mean total cost was less for sunitinib; US\$25.857 and US\$110.948, respectively (table 2).

In terms of effectiveness, sunitinib showed the best parameters in PLY and LYG at 10 years, while sorafenib and IFN were less favourable (table 2). The analysis of incremental cost effectiveness reason (ICER) showed that the IFN alone was cheaper but less effective; translating into a mean cost per LYG of US\$50.564 using sunitinib; while sunitinib was more effective and less costly (cost-saving) compared to sorafenib and the bevacizumab + IFN combination (table 2).

In the probabilistic sensitivity analysis, the ability to pay US\$50.000 was observed as sunitinib being cost-effective 60% of the times compared to IFN, while that for sorafenib and the bevacizumab + IFN combination the probability of being cost-effective was equal to zero. Figure 3 illustrates the probability of cost effectiveness at various willingness-to-pay thresholds for mRCC treatment.

Table 2. Mean values for the cost and effectiveness of treating patients suffering from mRCC in Colombia and sunitinib's cost-effectiveness compared to IFN, sorafenib and the bev + IFN combination in mRCC patients in Colombia (US\$2009)

First-line treatment	Cost per patient	Effectiveness per patient		First-line treatment				
		Medication	Incremental Cost	Incremental effectiveness	Incremental cost per life-years gained			
Sunitinib	68.236 (5,141)	1.35 (0.16)	2.90 (0.29)	Sunitinib vs. Others	Δ Cost	Δ PLY	Δ LYG	ICER (\$/LYG)
IFN	46.439 (6,514)	0.72 (0.05)	2.47 (0.17)	IFN	\$21.796	0.62	0.43	50,564
Sorafenib	94.093 (13,288)	0.83 (0.16)	2.74 (0.26)	Sorafenib	\$-25.857	0.52	0.16	Dominated
Bevacizumab + IFN	179.184 (16,902)	1.15 (0.12)	2.67 (0.27)	Bevacizumab + IFN	\$-110.947	0.19	0.23	Dominated

PLY = progression-free life years
LYG = life years gained



Figure 3. Cost-effectiveness acceptability curve for different treatments (US\$ at 2009 prices).

Based on the univariate analysis of sensitivity, the variable having the most influence on the outcomes of CE i.e. hazard risk for OS and DFS was identified as the cost of the first-line and the second-line medications.

Discussion

Despite the not-inconsiderable scientific progress in oncology research over the past decade, it would be incorrect to adopt new alternatives without considering all their consequences, including the economic impact and resource consumption. Hence, it is necessary to develop pharmaco-economic studies that provide support when taking clinical and administrative decisions with respect to efficient management of the resources, especially when taking into account clinical practice in Colombia.

Recently, Remak et al presented the final results of the complete economic analysis of 3 interventions (IFN, IL-2 and sunitinib) used most frequently in the treatment of mRCC in the USA²⁴. The study included variables similar to those described in the evaluation of sunitinib vs. IFN as first-line treatment of mRCC initially developed by our group for Colombia²⁶. The principal findings in the US clinical scenario were: sunitinib was associated with a gain in LYG of 0.41 and 0.35 over IFN and IL-2, respectively. Similarly, the gain estimated with sunitinib over that of IFN was 0.11 LYG and 0.14 QALY, results concordant with the data described in Colombia²⁶. In our country, sunitinib was more effective and less costly in a temporal horizon of 1 year. This information justifies the use of sunitinib as first-line treatment of mRCC²⁷.

However, both studies have a common methodological criticism i.e. the projection of the OS benefit from the original report^{1,28}, to the outcome in a subsequent analysis relating to another population study^{29,30}.

Demonstrating the effectiveness of the medications used in the management of mRCC presents certain limitations including the need to use secondary outcomes such as DFS and the rate of overall response. The original difficulty of obtaining definitive data OS in phase III clinical trials in cancer, principally via comparison of treatment arm crossover, is translated into the intention-to-treat underestimation of the real outcome of the medication which is more effective than the statistically-diluted estimation^{31,32}.

For the case of sunitinib, the effect is greater when the analysis of data of the population involves no crossover between the treatment arms; HR for OS of 0.64 (95%CI: 0.48-0.87). Applying these data in the model, the ICER was US\$27,877; a level that is below the threshold accepted worldwide for this type of pathology (US\$50,000-100,000) and very close to the threshold suggest by the WHO for developed countries; equivalent to 3 points PIB per capita for whatever pathology in Colombia (US\$22,000)³³.

The results for sorafenib within the first-line treatment of mRCC in Colombia need to be interpreted with caution, taking into account that, at the time of implementing the present study, there were no clinical trials comparing the multi-targeted inhibitor of IFN-alfa. Hence, in our model, we opted to use information from a study in which sorafenib versus placebo was compared; this magnifies the effect and the CE of the medication³⁴. Moreover, population between different clinical trials are comparable in terms of line of administration of the drugs, stage at treatment (all were stage IV), clinical performance status, MSKCC score, age, gender distribution, etc. Population is comparable to Colombian population analyzed in our study because those people were candidate to active treatment in first-line, and have similar characteristics of those shown in the large clinical trials, based on the trials that use interferon as comparator. We discuss first line treatment option, only. At the moment we planned the model, there is no authorization for using everolimus or pazopanib in our country.

The model for economic evaluation used in our study indirectly compared the 4 therapeutic options available under the Colombian National Health Service (SGSSS). This constitutes a methodological restriction since there is a lack of experimental studies comparing head-to-head effectiveness. This is controlled by

selecting the best evidence published for each of the medications employed in first-line treatment of mRCC³⁵. Another restriction of the analysis is the use of data derived from studies with short follow-up. This forces the projection of a wider temporal horizon, and which is susceptible to imprecision.

The structure of costs encountered in our study differ from that reported by investigators in developed countries where palliative care constitutes 40%-50% of the total cost of management of the advanced disease (followed by overall cost of the medications). This effect could be explained by the characteristics of the costs of palliative support in Colombia, which is neither normalised nor regulated³⁶. Data amount obtained for Colombian population (24 patients) is the largest available cohort of treatment in our country, for the moment when the analysis was done, that met the criteria for being analyzed (administration of an active first-line treatment, principally). The most limiting situation was availability of complete medical records.

In the USA, Spain and Sweden there have been studies comparing therapies available for mRCC³⁷⁻³⁹. The results are, in all cases, consistent with those reported in the present study. Procopio et al performed a cost analysis that evaluated the differences between the costs of the adverse effects attributable to sunitinib and the bevacizumab + IFN- α combination as first-line treatment for mRCC. They observed that the cost for the management of grade 3 and 4 events were €891 and €402, respectively⁴⁰. Similar results were observed in the UK, Germany and France⁴¹. The present study, as well, encountered a difference in favour of the bevacizumab + IFN- α combination with respect to the cost generated by the adverse effects. However, this represents < 2% of the total cost in each of the lines of treatment. Hence, performing an economic evaluation including all the relevant costs, sunitinib becomes less costly and more effective compared to the bevacizumab + IFN combination. Results were maintained in spite of

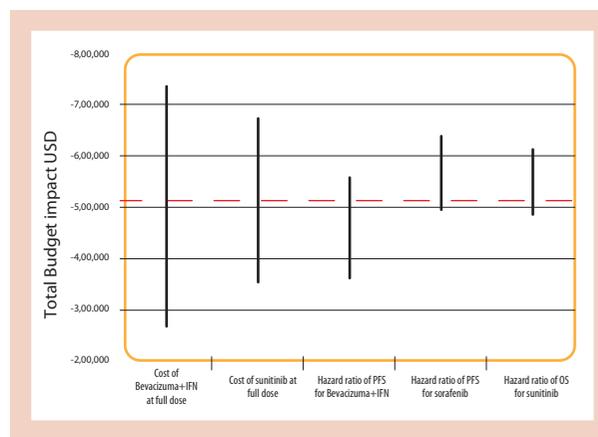


Figure 4. Analysis of the sensitivity of budget impact regarding adopting SU as therapy of choice for mRCC in the Colombian SGSSS (95%CI or 75%-125% range; Tornado graph USD) USD 2008.

variations in the most important parameters, as shown in the tornado graph (figure 4).

When proposing a therapy-of-choice for the first-line treatment of mRCC, the marginal efficacy of IFN implies that the sunitinib profile is more efficacious and cost-effective compared to the sorafenib and the bevacizumab + INF combination.

'Key points for decision makers'

1. Between 2006 and 2007 there are four interventions approved for the treatment of metastatic renal cell carcinoma in Colombia: IFN, sunitinib, bevacizumab + IFN and sorafenib.
2. In Colombia during 2006 and 2007, sunitinib was more effective and less costly in a temporal horizon of 1 year. This information justifies the use of sunitinib as first-line treatment of mRCC.
3. This study shows that sunitinib saves LYG of US\$50.564,25 compared to IFN in Colombia.
4. This data has to be taken with caution due to the major changes occurred in Colombia health system and in mRCC first and second line treatment scenario since its conception (2006) and execution.

References

1. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, et al. Sunitinib versus interferon alpha in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2007;356(2):115-24.
2. Chow WH, Devesa SS, Warren JL, Fraumeni JF Jr. Rising incidence of renal cell cancer in the United States. *JAMA*. 1999;281(17):1628-31.
3. Hollingsworth JM, Miller DC, Daignault S, Hollenbeck BK. Rising incidence of small renal masses: a need to reassess treatment effect. *J Natl Cancer Inst*. 2006;98(18):1331-4.
4. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer Statistics, 2007. *CA Cancer J Clin*. 2007;57(1):43-66.

5. Motzer RJ, Figlin RA, Hutson TE, Tomczak P, Bukowski RM, Rixe O, et al. Sunitinib versus interferon-alfa (IFN) as first-line treatment of metastatic renal cell carcinoma (mRCC): Updated results and analysis of prognostic factors. *J Clin Oncol*. 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. 2007;25(18S):5024.
6. Adams VR, Leggas M. Sunitinib malate for the treatment of metastatic renal cell carcinoma and gastrointestinal stromal tumors. *Clin Ther* 2007;29(7):1338-53.
7. Ries LAG, Melbert D, Krapcho M, Stinchcomb DG, Howlader N, Horner MJ, et al., editors. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2005. Bethesda, MD: National Cancer Institute, <http://seer.cancer.gov/csr/1975_2005/>, based on November 2007 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2008.
8. Wünsch-Filho V. Insights on diagnosis, prognosis and screening of renal cell carcinoma. *Sao Paulo Med J*. 2002;120(6):165-4.
9. Salvadó JA, Domínguez J, Velasco A, Bustamante A, Troncoso P, Pinochet R, et al. Factores pronósticos en carcinoma de células renales: ¿son adecuadas las variables definidas por el actual TNM? *Rev Chil Urol*. 2006;71(2):141-46.
10. Mirra AP, Latorre MRDO, Veneziano DB (eds.). Cancer incidence in the city of São Paulo, Brazil, 1997-1998. Cancer mortality in the city of São Paulo, Brazil. Trends in the period 1969-1998. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2001.
11. Rini BI, Campbell SC, Rathmell WK. Renal cell carcinoma. *Curr Opin Oncol*. 2006;18(3):289-96.
12. Halbert RJ, Figlin RA, Atkins MB, Bernal M, Hutson TE, Uzzo RG, et al. Treatment of patients with metastatic renal cell cancer: a RAND Appropriateness Panel. *Cancer*. 2006;107(10):2375-83.
13. Pouessel D, Culine S. Targeted therapies in metastatic renal cell carcinoma: the light at the end of the tunnel. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2006;6(12):1761-7.
14. Orozco JM. Los costos del plan obligatorio de salud subsidiado en Colombia. 2006. URL available from: <<http://www.eumed.net/libros/2006c/198/index.htm>> (accessed in June 2012).
15. Globocan 2000. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2000. URL available from: <www-dep.iarc.fr/globocan/database.htm> (accessed in June 2012).
16. Murillo R, Quintero A, Piñeros M, Bravo MM, Cendales R, Wiesner C, et al. Modelo para el control del cáncer en Colombia. URL available from: <http://www.incancerologia.gov.co/documentos/3_16_2007_9_41_13_AM_Modelo%20para%20el%20control%20def.pdf> (accessed in June 2012).
17. Martínez F, Robayo G, Valencia O. Desarrollo del principio de universalidad en el Sistema General de Seguridad Social en Salud: a ocho años de la reforma en Colombia. Acemi, Fedesalud; 2002. URL available from: <[http://www.funsalud.org.mx/red-jlb/actualizaciones/premio2003%20\(1\).pdf](http://www.funsalud.org.mx/red-jlb/actualizaciones/premio2003%20(1).pdf)> (accessed in June 2012).
18. Allareddy V, Konety BR. Inpatient costs for bladder, kidney, and prostate cancers in the year 2002. A study using the NIS sample. American Urological Association Annual Meeting, May 20-25, 2006. Abstract 232.
19. Lefebvre C, Lusher A, Dickersin K, Manheimer E. Literature searches. *Lancet*. 2002;359(9309):896.
20. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Oudard S, et al. Overall survival and updated results for sunitinib compared with interferon alfa in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 2009;27(22):3584-90.
21. Negrier S, Escudier B, Lasset C, Douillard JY, Savary J, Chevreau C, et al. Recombinant human interleukin-2, recombinant human interferon alfa-2a, or both in metastatic renal-cell carcinoma. Groupe Francais d'Immunotherapie. *N Engl J Med*. 1998;338(18):1272-8.
22. Szczylik C, Demkow T, Staehler M, Rolland F, Negrier S, Hutson TE, et al. Randomized phase II trial of first-line treatment with Sorafenib versus interferon in patients with advanced renal cell carcinoma: Final results. *J Clin Oncol*. 2007;25(18S):5025.
23. Escudier B, Bellmunt J, Négrier S, Bajetta E, Melichar B, Bracarda S, et al. Phase III trial of bevacizumab plus interferon alfa-2a in patients with metastatic renal cell carcinoma (AVOREN): final analysis of overall survival. *J Clin Oncol*. 2010;28(13):2144-50.
24. Remák E, Charbonneau C, Négrier S, Kim ST, Motzer RJ. Economic evaluation of sunitinib malate for the first-line treatment of metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 2008;26(24):3995-4000.
25. Weibull W. A statistical distribution function of wide applicability. *J Appl Mech Trans ASME*. 1951;18(3):293-7.
26. Godoy JI, Cardona AF, Alvis N, Arango CH, Romero C, Spath A, et al. Sunitinib vs. interferon-alfa (IFN) for first-line treatment of metastatic renal cell carcinoma (mRCC) in Colombia: an economic evaluation. *Rev Colomb Cancerol*. 2008;12(2):63-73.
27. Commission on Macroeconomics and Health, World Health Organization (WHO). Macroeconomics and health: investing in health for economic development. Geneva: World Health Organization; 2001.
28. Trippoli S, Messori A. Cost effectiveness of sunitinib. *J Clin Oncol*. 2008;26(35):5829.
29. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Oudard S, et al. Overall survival and updated results for sunitinib compared with interferon alfa in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol*. 2009;27(22):3584-90.
30. Heng DY, Chi KN, Murray N, Jin T, Garcia JA, Bukowski RM, et al. A population-based study evaluating the impact of sunitinib on overall survival in the treatment of patients with metastatic renal cell cancer. *Cancer*. 2009;115(4):776-83.
31. Chabot I, LeLorier J, Blackstein ME. The challenge of conducting pharmacoeconomic evaluations in oncology using crossover trials: the example of sunitinib for gastrointestinal stromal tumour. *Eur J Cancer*. 2008;44(7):972-7.
32. Gill S, Sargent D. End points for adjuvant therapy trials: has the time come to accept disease-free survival as a surrogate end point for overall survival? *Oncologist* 2006;11(6):624-9.
33. Negrier S, Figlin RA, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, et al. Overall survival with sunitinib versus interferon (IFN)-alfa as first-line treatment of metastatic renal cell carcinoma (MRCC). European Society Medical Oncology (ESMO) 2008. Abstract 588.
34. Bukowski RM, Eisen T, Szczylik C, Stadler WM, Simantov R, Shan M, et al. Final results of the randomized phase III trial of sorafenib in advanced renal cell carcinoma: Survival and biomarker analysis. *J Clin Oncol*. 2007;(May 20 suppl). Abstract 5023.
35. Coppin C, Le L, Porzsolt F, Wilt T. Targeted therapy for advanced renal cell carcinoma. *Cochrane Database Syst Rev*. 2008;(2):CD006017.
36. Benedict A, Charbonneau C, Kim ST, Négrier S. Cost-effectiveness of sunitinib, sorafenib, temsirolimus, and bevacizumab + interferon-alfa as first-line therapy for metastatic renal cell carcinoma: an indirect comparison. European Society Medical Oncology (ESMO) 2008. Abstract 723.
37. Benedict A, Charbonneau C, Hidi J, Kim ST, Négrier S. Economic evaluation of sunitinib, sorafenib, bevacizumab/interferon-alfa and temsirolimus for first line treatment of metastatic renal cell

carcinoma (mRCC): a cost-effectiveness analysis. *J Clin Oncol.* 2008;(May 20 suppl). Abstract 5048.

38. Díaz S, Calvo Aller E, Maroto P, Puente J, López-Brea M, Castellano D. Cost-effectiveness and cost-utility analysis of sunitinib vs. sorafenib and bevacizumab + interferon-alfa as first-line treatment for metastatic renal cell carcinoma in Spain. *European Society Medical Oncology (ESMO) 2008.* Abstract 724.

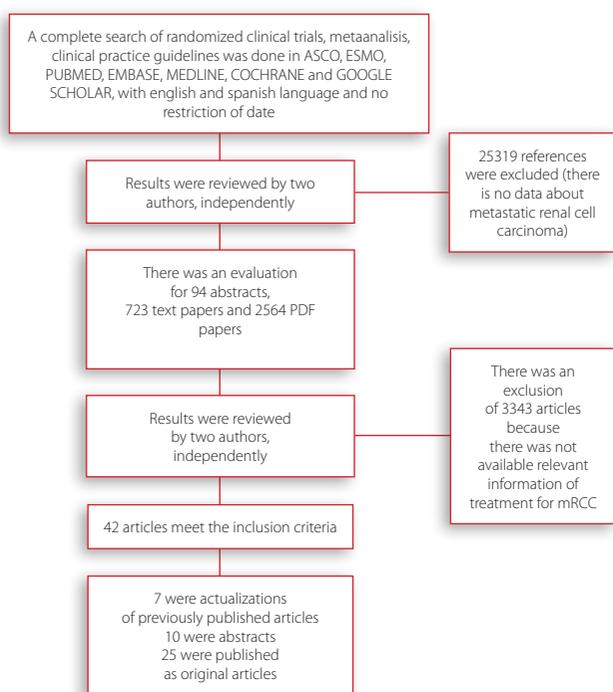
39. Munir U, Benedict A, Borgman B, Sandin R, Harmenberg U, Ullén A, et al. Cost-effectiveness of sunitinib vs. sorafenib, temsirolimus and bevacizumab + interferon-alfa as first-line therapy for metastatic renal cell carcinoma - Adaptation for the Swedish Health Service. *European Society Medical Oncology (ESMO) 2008.* Abstract 725.

40. Procopio G, Verzoni E, Bajetta E, Giuliani G, Peccerillo C, Walzer S, et al. Cost of managing side effects in the treatment of first-line metastatic renal cell carcinoma in Italy: bevacizumab + interferon alpha-2^a compared with sunitinib. *Ann Oncol.* 2008;(Oct 20 suppl.). Abstract 601.

41. Mickisch G, Escudier BJ, Gore ME, Walzer S, Sabaté E, Nuijten M. Costs of managing side effects in the treatment of first-line metastatic renal cell carcinoma (mRCC) in Germany, France, and UK: Bevacizumab (BEV) + interferon alpha-2a (IFN) compared with sunitinib. *J Clin Oncol.* 2008;26(May 20 suppl). Abstract 5110.

42. Bukowski RM, Eisen T, Szczylík C, et al. Final results of the randomized phase III trial of sorafenib in advanced renal cell carcinoma: survival and biomarker analysis. 2007 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. *J Clin Oncol.* 2007;25(18S):5023.

Annex 1. Search flowchart for clinical trials and other articles included in the fulltext Supplementary material



Annex 3. Record of the toxicities associated with the first-line intervention in mRCC

Medication	IFN	Sunitinib	Sorafenib	Bevacizumab + IFN
Source	Trial 1034 ^a	Trial 1034 ^a	Szczylik ^b	Escudier ^c
Cycles administered; N	1947	3793	1928	1755
Sample size; N	360	375	451	234
Events observed; N	141	515	217	112
Fatigue/asthenia	65	81	23	12
Stomatitis	1	5	23	n/a
Hypertension	4	64	14	19
Thrombocytopenia	4	47	n/a	n/a
Neutropenia	10	87	23	16.38
Abnormal ejection fraction	7	14	n/a	n/a
Nausea/vomiting	11	54	18	29
Diarrhoea	3	51	27.06	5
Anaemia	27	45	12	n/a
Hand-foot syndrome*	7	58	49.61	n/a
Infection	1	2	n/a	n/a
Proteinuria	n/a	n/a	n/a	15.21
Rash	1	7	27.06	n/a
Haemorrhage	0	0	n/a	7.722
Venous thromboembolism	n/a	n/a	n/a	4.212
Gastrointestinal perforation	n/a	n/a	n/a	3.51

* Palmar-plantar erythrodysesthesia syndrome
^a Pfizer: A6181034-A3 - A Phase III, randomised study of SU011248 versus interferon as first-line systemic therapy for patients with metastatic renal cell carcinoma. Data on file, December 2008.
^b Szczylik C, Demkow T, Staehler M, Rolland F, Negrier S, Hutson T, et al. Randomized phase II trial of first-line treatment with sorafenib versus interferon in patients with advanced renal cell carcinoma: Final results. *J Clin Oncol.* 2007;25(18S):5025.
^c Escudier B, Koralewski P, Pluzanska A, Ravaud A, Bracarda S, Szczylik C, et al. A randomized, controlled, double-blind phase III study (AVOREN) of bevacizumab/interferon-α2a vs placebo/interferon-α2a as first-line therapy in metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 2007;25(18S):3.

Annex 2. Estimated PFS and OS hazard ratios (HR) for the new generation medications compared to IFN

Hazard ratios of the different comparators (vs. IFN)				
Drug	HR	lower 95%CI	upper 95%CI	Source
Progression-free survival (PFS)				
Sunitinib	0.539	0.451	0.643	Negrier et al. 2008 ³³
Sorafenib	0.877	0.786	1.631	Szczylik et al. 2007 ²²
Bevacizumab+ IFN	0.63	0.59	0.8	Escudier et al. 2007 ²³
Overall Survival (OS)				
Sunitinib	0.821	0.673	1.001	Motzer et al. 2009 ²⁰
Sorafenib	0.88	0.74	1.04	Bukowski et al. 2007 ⁴²
Bevacizumab+ IFN	0.91	0.76	1.1	Escudier et al. 2009 ²³

Esplenectomía para patologías hematológicas en la Fundación Santa Fe de Bogotá: caracterización y evaluación de múltiples desenlaces[§]

Splenectomy for hematologic diseases at Fundación Santa Fe de Bogotá: characterization and evaluation of multiple outcomes[§]

► Andrés Acevedo^{1,2}, Diana Cuervo³, Guillermo Quintero^{1,2}, Myriam Rodríguez^{1,2}, Mónica Duarte¹, Martha Romero⁴, Carlos Saavedra⁴, Henry Becerra⁵, Carlos Castro⁵, Ricardo Nassar⁶, Andrés Felipe Cardona^{5,7}

¹Grupo Hematología y Trasplante de Médula Ósea, Instituto de Oncología, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

²Investigador asociado Hemo-ONCOLGroup.

³Facultad de Medicina, Universidad de los Andes (Bogotá, Colombia).

⁴Departamento de Laboratorio y Anatomía Patológica, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

⁵Grupo Oncología Clínica y Trasfusal, Instituto de Oncología, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

⁶Departamento de Cirugía, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

⁷Fundación para la Investigación Clínica y Molecular Aplicada del Cáncer (FICMAC); investigador asociado ONCOLGroup.

Resumen

Introducción: La esplenectomía representa una herramienta diagnóstica y terapéutica para múltiples patologías hematológicas benignas y malignas. Se presenta el análisis de una cohorte de pacientes esplenectomizados por enfermedad hematológica en la Fundación Santa Fe de Bogotá.

Materiales y métodos: entre 2004 y 2011, se identificaron 30 pacientes esplenectomizados por indicación hematológica benigna (n = 23) y maligna (n = 7). Se evaluaron las historias clínicas respecto de diversos parámetros y desenlaces a largo plazo.

Resultados: La edad promedio de los sujetos fue de 54 años; la mayoría fueron mujeres (64%) y la patología más frecuente fue la trombocitopenia inmunológica (60%). Previo al procedimiento, el 23% requirió algún tipo de soporte transfusional y en el 60% la esplenectomía se utilizó como primera o segunda línea terapéutica. En cuatro casos, el procedimiento se hizo como método diagnóstico y en otros tres, no hubo información de seguimiento. El análisis de desenlaces se realizó sobre 23 pacientes. Durante los primeros 30 días posoperatorios, se presentaron complicaciones infecciosas (17.4%) y hemorrágicas (13%) sin ninguna muerte atribuible al procedimiento. El 78% tuvo respuesta hematológica global y la mediana de supervivencia global fue de 133 meses (r, 108 a 157), período que fue menor entre quienes tuvieron dependencia transfusional preoperatoria (p = 0.04) y para quienes lograron la respuesta hematológica (p = 0.026). La tasa de complicaciones a largo plazo fue inferior al 10%.

Conclusiones: La esplenectomía obtiene frecuencias importantes de respuesta para patologías benignas y malignas de la sangre y se corresponde con una elevada supervivencia global relacionada a una baja tasa de complicaciones a largo plazo. La supervivencia se modifica principalmente por la dependencia transfusional preoperatoria, por lo que se sugiere explorar esta variable como determinante en otros estudios.

Palabras clave: Esplenectomía, trastornos linfoproliferativos, púrpura trombocitopénica inmunológica, anemia hemolítica, supervivencia.

Abstract

Introduction: Splenectomy represents a diagnostic and therapeutic strategy for many benign and malignant hematological conditions. The following article presents the results an analyzed series of splenectomized patients due to hematological diseases in Fundación Santa Fé de Bogotá.

Materials and methods: Between 2004 and 2011, thirty patients were splenectomized based on hematological benign (n = 23) and malignant (n = 7) disease as indication. Clinical records were evaluated to obtain information on various parameters and long term outcomes.

DATOS DE CONTACTO

Correspondencia: Andrés Acevedo, MD, y Guillermo Quintero, MD. Grupo Hematología y Trasplante de Medula Ósea, Instituto de Oncología, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia). **Dirección:** calle 119 N° 7-75. **Teléfono:** +571 603 0303 ext. 5227.

Correo electrónico: andres.acevedo@fsfb.org.co; quiquequintero@yahoo.com.mx

Fecha de recepción: 10 de mayo de 2012. **Fecha de aprobación:** 15 de julio de 2012.

Declaración de conflictos de interés: ninguno.

[§]Este estudio fue presentado localmente durante el Congreso Post ASCO-ASH 5.0 (2011) y durante el VII Encuentro de Investigadores de la Fundación Santa Fe de Bogotá 2011.

Results: The average age of patients was 54 years old and the sample was mainly composed by women (64%). Before surgery, the principal diagnosis was immune thrombocytopenic purpura (ITP) (60%); 23% required any degree of transfusional support and splenectomy was used as first or second line of treatment in 60% of the cases. Seven cases were excluded: four due to diagnostic splenectomy and three due to loss to follow-up. 23 patients were included for long-term analysis. During the 30-day post-operative period, there were 17.4% infectious and 13% hemorrhagic complications, none of which led to death. A complete hematological response was obtained following splenectomy in 78% of the cases and the overall survival was 133 months (r, 108-157), which was lower in whom had transfusional dependence ($p = 0.04$), and whom reached any hematologic response ($p = 0.026$). Long-term adverse events presented in less than 10%.

Conclusions: Splenectomy reaches important hematologic responses in benign and malignant blood diseases and results in a high survival rate, with a low frequency of complications. Overall survival is modified mainly by preoperative transfusional dependence; we suggest exploring this variable as a survival predictor in future studies.

Key words: Splenectomy, lymphoproliferative disorders, immunologic thrombocytopenic purpura, hemolytic anemia, survival.

Introducción

La resección quirúrgica total o parcial del bazo es un procedimiento realizado frecuentemente, lo que se refleja en las cerca de 22.000 esplenectomías practicadas en los Estados Unidos durante el 2005¹. En el 44% de los casos, esta intervención se practica de forma terapéutica, equitativamente entre las enfermedades hematológicas benignas y el trauma esplénico²; en menor grado, se utiliza en el proceso de estadificación y diagnóstico de algunas patologías malignas (20.2% y 9.5%, respectivamente)³.

En 1911, Sutherland reportó por primera vez una esplenectomía como tratamiento de la esferocitosis hereditaria (EH)⁴, y, posteriormente, en 1916, se utilizó para controlar las manifestaciones de la púrpura trombocitopénica inmunológica (PTI)⁵. Desde entonces, la intervención ha seguido un patrón dinámico, consolidándose como un eje terapéutico bien caracterizado en múltiples patologías hematológicas. Dentro de las condiciones más reconocidas, se encuentran la PTI, la anemia hemolítica (AH) de diversa índole y algunos tipos de linfomas localizados en el bazo⁶⁻¹⁰. Por ejemplo, para el caso de la PTI, después de la introducción de los corticosteroides por Dameshek en 1951¹¹, tradicionalmente se ha reportado su uso en aquellos pacientes que han sido refractarios al tratamiento. Se ha estimado que, en aquellos que no responden al manejo conservador, la resección del bazo logra la remisión completa en dos terceras partes de la población afectada¹². Para los casos de las AH autoinmunes, la esplenectomía tiene una efectividad similar a la inmunoterapia cuando se ha fracasado al tratamiento con esteroides, prefiriéndose, en general, sobre esta última opción⁸. Para aquellos que presentan una AH de carácter hereditario, la esplenectomía reduce el

requerimiento transfusional medio, alcanzando diversas respuestas globales de la enfermedad en presencia de una membranopatía (esferocitosis y eliptocitosis hereditaria), enzimopatía (deficiencia de piruvato kinasa) o hemoglobinopatía (talasemias)^{13,14}.

Estudios recientes, desarrollados en pacientes con neoplasias hematológicas esplénicas (específicamente en el linfoma marginal primario del bazo), han demostrado que el procedimiento es seguro y eficaz cuando se realiza por laparoscopia, logrando una tasa de remisión completa a mediano y largo plazo que oscila alrededor del 65% al 100%, incluyendo con frecuencia la combinación con quimioterapia adyuvante^{15,16}. Lo anterior contrasta con una tasa de complicaciones mayores y menores relacionadas con la técnica quirúrgica inferior al 23%, siendo las más frecuentes las atelectasias, el neumotórax, el íleo prolongado, las complicaciones de la herida quirúrgica y los derrames pleurales¹⁷. Actualmente, el papel de la cirugía es debatible para estos casos debido a que en algunos registros se ha observado una tasa de respuesta similar con el uso de quimioinmunoterapia sin la intervención quirúrgica¹⁶.

Con el tiempo, el perfeccionamiento de las habilidades y técnicas quirúrgicas ha permitido la introducción de procedimientos mínimamente invasivos, como la laparoscopia, que ofrecen menos complicaciones, tiempo de hospitalización y morbimortalidad respecto del procedimiento efectuado a cielo abierto¹⁸⁻²⁰. Esta vía fue descrita por primera vez en 1991 por Delaitre y colaboradores²¹, y su diseminación en la práctica clínica regular es una realidad en nuestro entorno²². A continuación, se describe una serie de pacientes esplenectomizados por alguna indicación hematológica en el Hospital Universitario de la Fundación Santa Fe de Bogotá (Colombia).

Materiales y métodos

El objetivo principal del estudio fue determinar la supervivencia global (SG) de los pacientes esplenectomizados por alguna enfermedad hematológica en la Fundación Santa Fe de Bogotá (FSFB), y plantear posibles factores que pudieran modificarla. Los objetivos secundarios contemplaron estimar la supervivencia libre de recaída (SLR), la frecuencia de la respuesta hematológica y de las complicaciones a corto plazo y a largo plazo.

Se diseñó un estudio descriptivo retrospectivo que incluyó los pacientes esplenectomizados por cualquier técnica entre los años 2004 y 2011. El tamaño de la muestra a priori no fue calculado debido a la heterogeneidad y pequeño tamaño esperado de la población, por lo que fue determinado a conveniencia. Los registros fueron identificados a través del sistema virtual de historias clínicas, utilizando los códigos únicos CIE-10 correspondientes al procedimiento. Se incluyeron en el estudio aquellos pacientes que registraron como diagnóstico principal cualquier enfermedad hematológica, sin considerar restricciones por la edad o indicación quirúrgica, y fueron excluidos todos los casos de esplenectomía por trauma.

La información fue extraída de los registros por dos investigadores (AA y DC), quienes ingresaron los datos en una base diseñada para el estudio. Como estrategia de verificación, se seleccionaron tres variables definitorias para valorar el acuerdo entre investigadores al momento de la captura de la información: indicación del procedimiento, diagnóstico definitivo y respuesta hematológica. Sobre estas, cada investigador evaluó la concordancia de los datos extraídos por duplicado (intraobservador) y luego se comparó la información extraída por los dos investigadores (interobservador). Adicionalmente, se estimó la frecuencia de datos faltantes en las historias clínicas. Con el objetivo de mejorar el rendimiento de la información obtenida, se estableció contacto telefónico con los pacientes para corroborar fechas definitorias para el cálculo de la supervivencia y se llevó a cabo una revisión manual de los registros quirúrgicos. La digitación y evaluación se realizó en forma nominal, sin ajustar los datos de la historia clínica, usando el paquete estadístico SPSS versión 18.0 (IBM® software, Chicago, IL, EE. UU.).

Se recolectaron diversas variables clínicas (edad, sexo, líneas de tratamiento previas, dependencia transfusional –definida como el requerimiento de transfundir cualquier componente debidamente indicado en el último año antes del procedimiento quirúrgico–, número de líneas hematológicas comprometidas), los desenlaces derivados de la cirugía (técnica quirúrgica, complicaciones a 30 días y mortalidad), algunas características histopatológicas de los bazo resecados (peso, presencia y tipo de neoplasia), la evolución de la enfermedad hematológica y su respuesta (determinada a los 30 y 120 días para las patologías benignas y malignas, respectivamente), las infecciones por gérmenes encapsulados (*N. meningitidis* y *H. influenzae*) conocidas como OPSI (*overwhelming post-splenectomy infection*), los eventos trombóticos al término del seguimiento, la SG y SLR.

En todos los casos, la respuesta hematológica se determinó según la enfermedad. Para la PTI, se definió respuesta completa (RC), parcial (RP) y ausente de acuerdo con el recuento plaquetario medido al menos en dos ocasiones 30 días después de la cirugía en > 100.000 cel/ml, $100.000-30.000$ cel/ml o < 30.000 cel/ml, respectivamente. Para la AH, la RC se consideró cuando se encontró un valor de hemoglobina en rango normal para la edad sin requerimiento transfusional por al menos seis meses después de la esplenectomía; la RP, cuando hubo una mejoría de al menos el 50% sobre el nivel basal de la hemoglobina registrado antes de la cirugía; y ausencia de respuesta, en presencia de una mejoría menor al 50% o por la necesidad de otras intervenciones médicas (inmunoterapia y danazol, entre otros). En los pacientes con linfomas, se usaron los criterios de Cheson²³ cuando se encontró enfermedad medible; en quienes se documentó compromiso de médula ósea, la respuesta se valoró con una nueva muestra que debió ser negativa tras el tratamiento.

Los resultados se caracterizaron mediante la determinación de frecuencias absolutas, relativas, medidas de tendencia central y de dispersión. Para la determinación de asociaciones entre frecuencias de variables categóricas evaluadas, se hizo un análisis univariado usando el estadístico Ji al cuadrado (X^2) o el test exacto de Fisher cuando fue necesario. Para todos los casos, el nivel de significancia fue de $p < 0.05$. Por ser ajeno a la conducta terapéutica, para la determinación de las

tasas de respuesta y supervivencia en los pacientes con neoplasias, se excluyeron del análisis los casos en los que la esplenectomía se llevó a cabo como procedimiento diagnóstico. Las estimaciones de supervivencia se hicieron tomando como fecha inicial la de la esplenectomía y como fecha final la ocurrencia de muerte (SG) o de recaída por los criterios anteriormente definidos (SLR). Se utilizó el modelo no paramétrico del límite del producto (método de Kaplan-Meier) y sus funciones se compararon mediante las pruebas del Log-rank y Tarone-Ware. Con el fin de valorar los factores que influyeron sobre la supervivencia libre de recaída y global, se realizó un análisis multivariado empleando el modelo proporcional de Cox (introducir). Las variables incluidas en dicho modelo fueron seleccionadas a partir de un consenso de especialistas en hematología, las cuales fisiopatológicamente se consideraron como modificadoras de la supervivencia y que tuvieron positividad en el análisis univariado.

Resultados

Sobre la información recolectada, se estimó un nivel de concordancia intraobservador del 100% e interobservador del 94%. Sobre el total de datos proyectados en el aplicativo, se pudo completar la información correspondiente en más del 90%; lo anterior fue posible gracias a la disponibilidad de una historia clínica digitalizada y sistematizada, quedando datos faltantes en quienes no fue posible el seguimiento clínico posterior a la esplenectomía por motivos administrativos o de procedencia.

Características de la población en estudio

La tabla 1 muestra las características generales de los pacientes incluidos en el estudio. Un total de 30 pacientes con edades entre los 2 y 81 años fueron incluidos en el estudio (mediana de 54 años); de estos, el 63% eran mujeres (n = 19). El diagnóstico dominante fue la PTI en 3 de cada 5 pacientes; de ellos, el 67% eran del sexo femenino, relación que no mostró dominancia para el resto de los diagnósticos (p = 0.94). Las neoplasias hematológicas (23%) y las AH (17%) resultaron menos frecuentes. El 40% de la población había recibido dos o más líneas de tratamiento médico antes de la esplenectomía, hecho positivo para los pacientes con PTI, pero no para aquellos con AH, donde el 80% solo se expuso a una intervención médica antes de la cirugía 16.7. La mayoría de los sujetos tenía al menos una citopenia manifiesta en el hemograma (77%); el 13%, dos o más; y el 10%, ninguna. Casi una cuarta parte de la población presentó algún grado de dependencia transfusional, característica dominante entre quienes tenían AH (p = 0.03) y sexo masculino (p = 0.02). Este hallazgo no fue positivo en los 16 pacientes que habían recibido dos o más tratamientos antes de la cirugía (p = 0.52).

En general, los últimos tratamientos recibidos antes de la esplenectomía fueron los esteroides (67%), seguidos en frecuencia por la inmunoterapia (17%). A lo largo de la enfermedad, 25 pacientes recibieron esteroides; 10, algún tipo de inmunoterapia (gamma-globulina humana o anti-D); y 4, rituximab. La minoría de pacientes recibió inmunosupresión (ciclosporina, micofenolato mofetil, ciclofosfamida) o danazol.

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los pacientes sometidos a esplenectomía por enfermedad hematológica en la FSFB entre 2004 y 2011 (n = 30)

	Diagnóstico principal			Total
	PTI	AH*	Neoplasia hematológica**	
Número de pacientes n (%)†	18 (60.0)	5 (16.7)	7 (23.3)	30 (100)
Género masculino n (%)	6 (33.3)	3 (60)	2 (28.6)	11 (36.7)
Edad mediana al diagnóstico años (rango)	50.5 (17-75)	54 (2-66)	78 (64-81)	54.5 (2-81)
Dependencia transfusional n (%)	1 (5.6)	4 (80)	2 (28.6)	7 (23.3)
Líneas de tratamiento previas a la esplenectomía				
0 o 1 n (%)	8 (44.4)	4 (80)	6 (85.7)	18 (60)
≥ 2 n (%)	10 (55.6)	1 (20)	1 (14.3)	12 (40)
Citopenias en sangre periférica				
0 o 1 n (%)	17 (94.4)	4 (80)	4 (57.1)	25 (83.3)
≥ 2 n (%)	1 (5.6)	1 (20)	3 (42.9)	5 (16.7)
Técnica laparoscópica n (%)	17 (94.4)	3 (60)	4 (57.1)	24 (80)
Indicación terapéutica de la esplenectomía n (%)	18 (100)	5 (100)	3 (42.9)	26 (86.6)
Peso mediano del bazo en gramos (rango)	89.5 (35-150)	490 (297-1002)	505 (154-2304)	132.5 (35-2304)

† Incluye 2 pacientes con anemia hemolítica autoinmune, 2 pacientes con anemia hemolítica sin etiología determinada, 1 paciente con enzimopatía.
 ** Incluye 3 pacientes con linfoma marginal esplénico, 1 paciente con linfoma B difuso de célula grande con infiltración esplénica, 1 paciente con linfoma no primario del bazo, 1 paciente con linfoma de Hodgkin de localización esplénica, 1 paciente con leucemia linfocítica crónica.
 † Dentro del total de todos los casos.

La indicación para la realización de la esplenectomía fue terapéutica predominantemente y en cerca del 15% su motivo fue diagnóstico. En la gran mayoría de los casos, el procedimiento se llevó a cabo por vía laparoscópica (80%), requiriendo conversión en 2 de ellos (ambos casos registraron un peso medio del bazo superior a 130 g).

La cuantificación del peso (mediana) de los bazos resecaados fue de 330 g (r, 35-2.304). En un 70%, se apreció congestión de la pulpa roja, siendo este hallazgo más frecuente en quienes tuvieron un peso menor a 130 g (p = 0.02) y en los que se confirmó el diagnóstico de PTI (p = 0.02). Por otra parte, la hiperplasia de la pulpa blanca y la hematopoyesis extramedular se encontraron en menor grado (28% y 7% de los casos, respectivamente), sin alguna preferencia especial según el diagnóstico. En 7 casos fue evidente la infiltración tumoral esplénica, con el hallazgo incidental de un angiosarcoma de localización focal en un paciente con PTI. En ningún espécimen se documentó fibrosis extensa ni trombosis.

Desenlaces y complicaciones a corto y a largo plazo

De los 30 pacientes esplenectomizados, 4 fueron llevados al procedimiento por indicación diagnóstica asociada a esplenomegalia: 2 en el estudio de adenomegalias sistémicas, 1 por una AH autoinmune corticorresistente y 1 por leucopenia. En los cuatro casos, se evidenció un síndrome linfoproliferativo esplénico no

primario y se administró el tratamiento correspondiente. De los 26 sujetos restantes, en 3 (11.5%) no fue posible realizar el seguimiento (1 paciente con AH autoinmune y 2 con PTI). Por lo anterior, la respuesta al tratamiento y la presentación de complicaciones fue estimada sobre 23 pacientes.

La tabla 2 exhibe la frecuencia de respuestas hematológicas y complicaciones en los primeros 30 días tras la esplenectomía, así como los desenlaces a largo plazo. En el 70% (n = 19) de los casos, se alcanzó la respuesta global (RG = RC + RP) de las alteraciones hematológicas tras la realización de la esplenectomía, sin una tendencia estadísticamente significativa al considerar el diagnóstico (PTI frente a los otros). Sin embargo, se obtuvo una RG en más del 80% de los casos de PTI y en las neoplasias hematológicas, no así en los casos de AH (~25%). Para las neoplasias, el manejo posesplenectomía incluyó la consolidación del tratamiento con quimioterapia y/o inmunoterapia.

Respecto al período posoperatorio, el 8.3% (n = 2) tuvo alguna complicación infecciosa o hemorrágica, que en ningún caso resultó en mortalidad temprana. No hubo diferencias en la presentación de complicaciones posoperatorias según el tipo de enfermedad hematológica (p = 0.55), pero sí cuando se discriminó la relación según la dependencia transfusional (p = 0.0001) y el no alcanzar una respuesta hematológica (p = 0.009). Al término del seguimiento, todos (n = 3) los pacientes que tuvieron alguna complicación perioperatoria habían muerto, frente al 13.6% de los que no las presentaron (p = 0.013).

Tabla 2. Frecuencia de respuesta hematológica y eventos adversos a corto y largo plazo después de la esplenectomía (n = 23)

	Diagnóstico principal			Total
	PTI	AH [*]	Neoplasia hematológica ^{**}	
Respuesta a corto plazo				
Respuesta hematológica global (RC + RP) n (%)	14 (87.5)	1 (25)	3 (100) [†]	18 (78.3)
No respuesta n (%)	2 (12.5)	3 (100)	0 (0)	5 (21.7)
Complicaciones a corto plazo				
Infecciosas n (%)	1 (6.3)	3 (75)	0 (0)	4 (17.4)
Hemorrágicas n (%)	1 (6.3)	1 (25)	1 (33)	3 (13)
Recaída a largo plazo n (%) ^{***}	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Complicaciones a largo plazo n (%)				
Infecciosas n (%)	0 (0)	2 (50)	0 (0)	2 (8.3)
Trombóticas n (%)	1 (5.9)	0 (0)	1 (33)	2 (8.3)
Mortalidad a largo plazo n (%)	1 (6.3)	2 (50)	0 (0)	3 (13)
Pérdida del seguimiento n (%)	2 (11)	1 (20)	0 (0)	3 (11.5)
Número de pacientes n (%) ^{††}	16 (69.6)	4 (17.4)	3 (13.4)	23 (100)

^{*} Incluye 1 paciente con anemia hemolítica autoinmune, 2 pacientes con anemia hemolítica sin etiología determinada, 1 paciente con enzimopatía.
^{**} Incluye 2 pacientes con linfoma marginal esplénico y 1 paciente con leucemia linfocítica crónica.
^{***} Sobre el total de pacientes que alcanzaron algún grado de respuesta hematológica.
[†] El manejo de estos pacientes incluyó quimioterapia y/o inmunoterapia en todos los casos.
^{††} Análisis sobre el total de pacientes con seguimiento posquirúrgico.

Impacto clínico de la esplenectomía y supervivencia

De los pacientes que lograron la RG con el procedimiento, este fenómeno fue mantenido durante el seguimiento y no se presentaron recaídas. Por el anterior motivo, la SLR se homologó a la SG y no fue calculada para nuestra serie. Los factores que se asociaron a una mayor SG se ilustran en la tabla 3 y fueron principalmente la dependencia transfusional ($p = 0.04$) y el logro de la respuesta hematológica ($p = 0.026$).

Al término del estudio (mediana de seguimiento 44.7 meses), 4 pacientes (15%) habían muerto, ninguno de ellos por la condición hematológica de base. La supervivencia global (SG) fue de 133 meses (IC95% 108.5 a 157 meses) (figura 1), mayor para el subgrupo de las PTI (149 meses; IC95% 128 a 170) en comparación con aquellos que tenían otras entidades nosológicas (79 meses; IC95% 49.5 a 109.6, $p = 0.084$; figura 2A). La evaluación del mismo desenlace discriminado por el peso del bazo encontró

Tabla 3. Asociaciones entre la mortalidad a largo plazo en un modelo univariado para los pacientes esplenectomizados de acuerdo con diversos factores clínicos, histopatológicos e intervenciones posteriores ($n = 23$)

	Número de pacientes (n = 23)	Mortalidad (%)	Valor p
Edad			
Menor de 50 años	11	1 (9.1)	NS
Mayor de 50 años	12	1 (8.3)	
Sexo			
Masculino	8	1 (12.5)	NS
Femenino	15	1 (6.7)	
Tipo de enfermedad hematológica			
Púrpura trombocitopénica inmunológica	17	1 (5.9)	NS
Anemias hemolíticas	3	1 (33.0)	
Enfermedades malignas	3	0 (0)	
Número de líneas de tratamiento previo a la esplenectomía			
0 o 1	12	0 (0)	NS
≥ 2	11	2 (18.2)	
Dependencia transfusional prequirúrgica			
Sí	5	2 (40.0)	0.04
No	18	0 (0)	
Peso del bazo al estudio histopatológico			
< 130 g	14	0 (0)	NS
≥ 130 g	9	2 (22.2)	
Requerimiento de tratamiento a largo plazo			
Sí	5	1 (20.0)	NS
No	18	1 (5.6)	
Respuesta hematológica a largo plazo			
Sí	18	0 (0)	0.026
No	4	2 (50.0)	
Complicaciones a largo plazo			
Sí	4	1 (25)	NS
No	19	1 (5.3)	

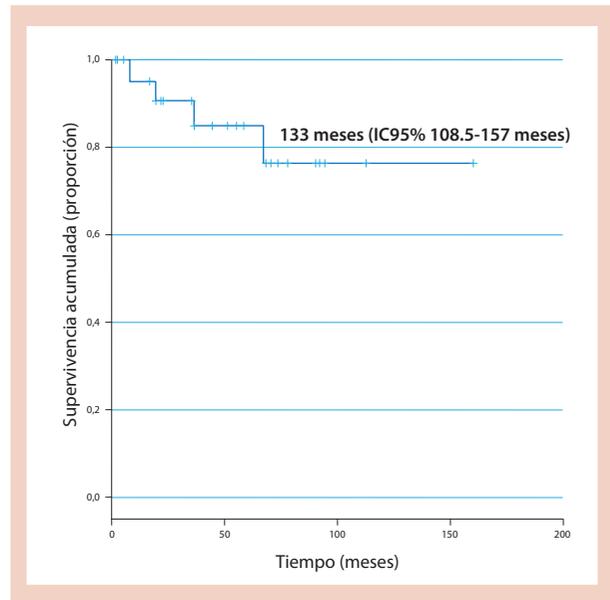


Figura 1. Supervivencia global en los pacientes ($n = 23$) con enfermedad hematológica tratados con esplenectomía en la FSFB.

una diferencia estadísticamente significativa a favor de quienes obtuvieron un valor inferior a 130 g –no alcanzado (NA) versus 36.6 meses; $p = 0.024$; figura 2B–. De forma similar, la ausencia de dependencia transfusional modificó positivamente la supervivencia (NA versus 36 meses; $p = 0.001$), hallazgo concordante con el estimativo de las medianas conforme al grado de respuesta (en presencia de RC, la SG no se ha alcanzado, mientras que este valor para quienes no respondieron fue 36.6 meses; $p = 0.007$) (dato no mostrado). Los pacientes que no requirieron tratamiento posterior tuvieron una mayor SG (con y sin tratamiento posterior a la esplenectomía 51 y 152 meses, respectivamente; $p = 0.007$), relación dominante para el grupo con PTI (2/10 sujetos). Además, la presentación

Tabla 4. Modelo proporcional de Cox para las variables determinantes de la supervivencia en los pacientes esplenectomizados por enfermedades hematológicas en la FSFB ($n = 23$)

Variable	Razón de riesgo	IC95%		Valor p
		Inferior	Superior	
Peso del bazo mayor o menor de 130 g	NA	NA	NA	0.109
Dependencia transfusional	187003.63	0	8.34 E + 140	0.029
Respuesta hematológica	NA	NA	NA	0.108
Sexo	1.479	0.152	14.393	0.135
Requerimiento de tratamiento posterior	NA	NA	NA	0.140
Recepción de más de una línea de tratamiento previo	NA	NA	NA	0.892
PTI frente a otros diagnósticos	NA	NA	NA	0.177

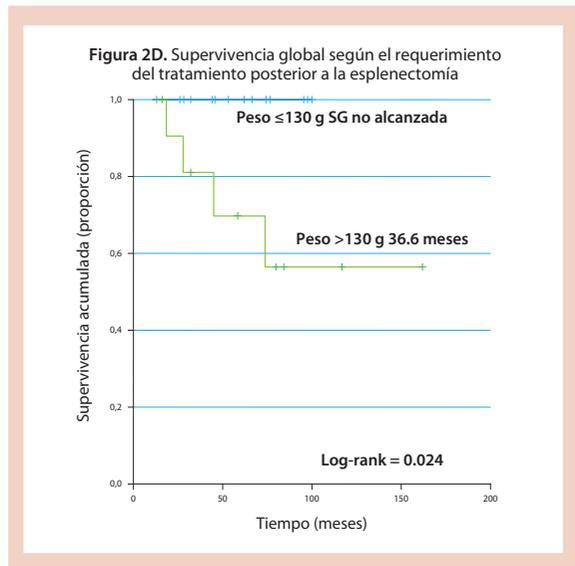
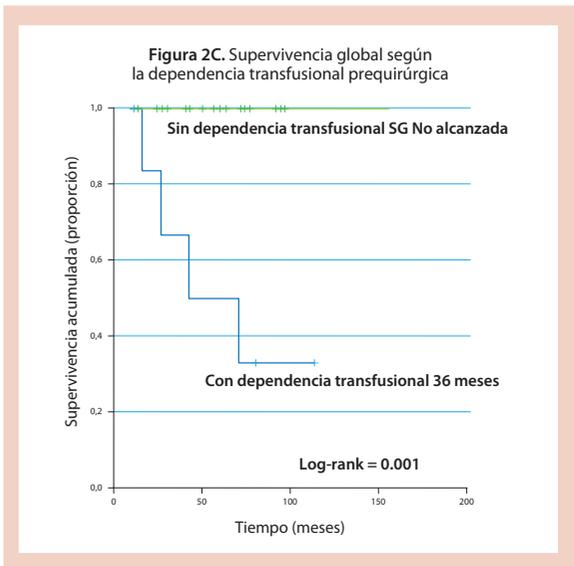
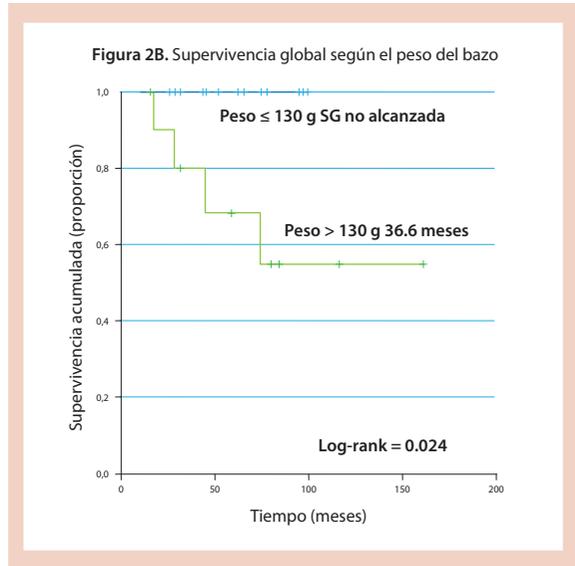
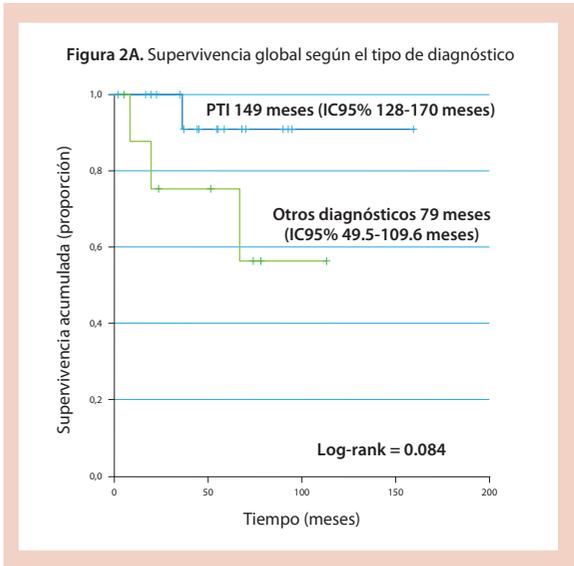
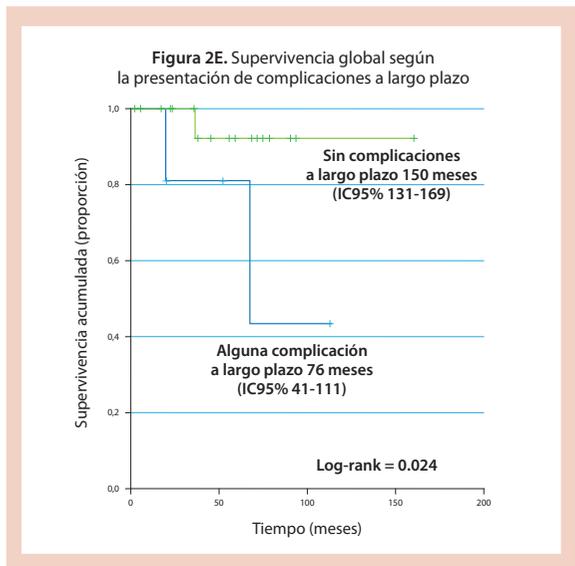


Figura 2. Supervivencia global en los pacientes esplenectomizados de acuerdo con las cuatro variables determinantes obtenidas en el modelo proporcional de Cox.



de complicaciones a largo plazo mostró cierta tendencia a disminuir la supervivencia ($p = 0.062$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la SG respecto del número de líneas de tratamiento antes de la intervención (al menos una línea, 98 meses *versus* 2 líneas o más 131 meses; $p = 0.788$), según el tipo de abordaje quirúrgico (laparotomía 87 meses *versus* laparoscopia 135 meses; $p = 0.733$) o la edad estratificada a partir de los 50 años (< 50 años 145 meses *versus* > 50 años 78 meses; $p = 0.381$). Finalmente, el análisis multivariado solo identificó a la dependencia transfusional como variable que determinó la supervivencia (tabla 4).

Discusión

Aun después de 100 años desde su descripción, la esplenectomía continúa representando una alternativa terapéutica ampliamente considerada para los pacientes con diversas patologías hematológicas: la PTI, la púrpura trombocitopénica trombótica (PTT), las AH de diversa índole, junto con ciertas neoplasias de la sangre tanto de localización esplénica primaria como secundaria. Sin embargo, los estudios de mejor evidencia (experimentos clínicos aleatorizados y metaanálisis) son escasos o nulos respecto a esta intervención. Por otro lado, son numerosas las series de casos y cohortes (con tamaño y población variables) que han descrito la efectividad de la esplenectomía para estas condiciones, especialmente a corto plazo²⁴ y con pocos datos del contexto latinoamericano²². En estas, es claramente predominante el papel de la PTI como la indicación más frecuente de la esplenectomía; lo anterior podría estar relacionado con su incidencia (en especial en la población femenina) cuantificada en 3.9 casos por 100.000 habitantes/año²⁵. Las entidades hematológicas malignas y las AH le siguen en frecuencia como indicaciones del procedimiento, siendo su orden variable según el estudio^{17,22,26,27}. En el presente trabajo, la distribución de las indicaciones se mantuvo alrededor de lo descrito en la literatura.

Conforme con la condición hematológica, la edad al momento de la esplenectomía también es relativa; tanto en los casos de PTI y algunos de AH es notoria la afectación entre los más jóvenes^{25,28}. Esta distribución se opone al promedio de edad de los pacientes con neoplasias hematológicas, entidades en las que se

aprecia un rango superior¹⁸. Si bien la presente serie no contó con un número representativo de pacientes con AH y neoplasias, en el caso de la PTI sí fue evidente la afectación de la población femenina, acorde con lo reportado en otras series. La estratificación de los grupos según la edad y la patología en nuestra cohorte es coherente con el curso biológico de estas enfermedades, y sigue lo informado previamente¹⁷. Respecto a la esplenectomía en pacientes pediátricos, existe un acuerdo general para posponer la operación hasta que se haya alcanzado un mínimo de seis años de edad, otorgando un limitado nivel de evidencia^{2,29}. En nuestra serie, se llevó un paciente al procedimiento a los dos años de edad por una AH documentada al nacimiento, sin causa evidente, pero con un requerimiento transfusional intensivo (cada dos semanas). Aunque no se logró obtener la respuesta hematológica, el paciente disminuyó la frecuencia e intensidad del soporte que venía recibiendo y hasta la fecha del seguimiento continuaba vivo y con menor morbilidad.

La piedra angular en el manejo inicial de múltiples condiciones hematológicas (en especial las benignas) que afectan el bazo son los corticoesteroides; su uso es explicable como consecuencia del efecto pleiotrópico sobre el sistema reticuloendotelial^{30,31}. De allí que la mayoría de líneas de tratamiento previas a la esplenectomía hayan sido estos agentes. Particularmente en la PTI, tras esta intervención, se recurre al procedimiento quirúrgico; en contraste y en nuestra cohorte, la esplenectomía fue diferida como tratamiento más tardío en cerca de la mitad de los pacientes con PTI o AH.

Se han hecho esfuerzos por determinar la eficacia de la esplenectomía en diversos contextos. Una revisión sistemática no convencional que incluyó 135 series de casos de más de 15 pacientes con PTI encontró una frecuencia de RC a largo plazo del 66%; en especial, la RC después de cinco años se obtuvo en el 71% de los casos de PTI sin importar la edad²⁴. Lo anterior contrastó con una frecuencia consolidada de complicaciones globales del 9.6% y 12.9%, y de mortalidad del 1.0% y 0.2%, cuando se usó la técnica laparoscópica y abierta, respectivamente. Para los casos de AH autoinmunes, la frecuencia de obtener una respuesta global se estimó entre el 56% y 100%, según su naturaleza secundaria o primaria^{8,13,32}. En el caso de los linfomas de la zona marginal de localización esplénica, la resección del bazo ha derivado

en tasas de respuesta superiores al 95%^{33,34}. No obstante, la falta de homogeneidad para indicar la esplenectomía como segunda línea de elección podría estar supeditada por la mínima cantidad de estudios clínicos de alto nivel de evidencia, que se hayan realizado a gran escala, que promulguen la efectividad del procedimiento, y por la aparición y comercialización de los nuevos agentes farmacológicos que abogan por la preservación del órgano con el fin de evitar los riesgos a los que predispone la asplenia^{7,8}. Para ilustrar este hecho, actualmente existen estudios en curso registrados en *ClinicalTrials.gov* que evalúan varios agentes con el objetivo de postergar la esplenectomía en múltiples patologías hematológicas como segunda línea de manejo, tales como el anticuerpo monoclonal anti-CD₂₀ rituximab en AH autoinmune (NCT01181154) y en PTI (NCT00344149), y el agonista del receptor de trombopoyetina AMG531 en PTI (NCT00415532). En el caso de las neoplasias hematológicas esplénicas, el uso de la quimioterapia y/o inmunoterapia concomitante ha resultado en tasas de respuesta similares a las obtenidas mediante la cirugía^{35,36}. En el presente trabajo, la RG fue acorde con lo reportado en la literatura para los casos de PTI, sin embargo, para los otros, no fue posible deducir su frecuencia por el bajo número de pacientes por grupo.

La tasa de complicaciones perioperatorias fue aceptable, debido principalmente a las infecciones (del sitio operatorio, locales de otros sitios o sistémicas) que en general fueron manejadas exitosamente (no hubo ninguna muerte por sepsis) en los 30 días posoperatorios, resultando en una mortalidad temprana nula. Si bien su frecuencia fue levemente menor en nuestra serie, es fundamental resaltar que los pacientes cuya cirugía es de mayor complejidad (pacientes con esplenomegalia importante) fueron pocos. Por otro lado, la morbilidad posoperatoria se ha reportado hasta en el 23%, siendo principalmente de tipo no infeccioso^{20,37} y congruente con nuestros hallazgos. A largo plazo, las complicaciones de índole infecciosa y trombótica solo se presentaron cada una en un paciente. Esta frecuencia es similar a lo reportado³⁸, y es justificable por el uso sistemático de la vacunación contra gérmenes encapsulados.

Por ser patologías crónicas, los estudios disponibles han evaluado predominantemente la SLR. Para la PTI, se ha estimado una SLR a cinco años entre el

70% y 90%, y a 10 años del 55% al 65%³⁸⁻⁴². Sin embargo, estos valores suelen estar comprometidos por la pérdida de pacientes durante el seguimiento, evento que oscila alrededor del 30%, al igual que por la heterogeneidad de la población incluida en dichos estudios^{38-40,42}. Lo anterior explica porque los factores determinantes de la SLR han sido controvertidos en este grupo de pacientes, sugiriendo algún impacto sobre el pronóstico de la edad, el sexo, y la respuesta a los esteroides antes de la cirugía, entre otros^{24,39}. La SG en PTI, por el contrario, ha sido pobremente caracterizada³⁸. En el presente estudio, la SG no pudo ser comparada con la SLR, puesto que los pacientes fueron expuestos con frecuencia a otras opciones terapéuticas posesplenectomía.

Para las AH no autoinmunes (p. ej., enzimopatías), la experiencia resulta más escasa y limitada, reportando estabilidad de los requerimientos transfusionales, en las cifras de hemoglobina y en el período libre de tratamiento, después de 1 y 8 años de seguimiento posterior a la esplenectomía^{13,14,43}. Por tal motivo, en los pacientes con AH por deficiencia de piruvato-quinasa, se recomienda desde hace varias décadas practicar la esplenectomía en los jóvenes severamente afectados que requieren un soporte transfusional regular y toleran pobremente la anemia⁴⁴. En nuestra serie, en una paciente de seis años con esta entidad, se logró la RC después de la cirugía, resultado que se mantuvo hasta el término del seguimiento. En los casos de AH autoinmunes, la información de supervivencia es escasa y se concentra en pequeños registros¹³ o en estudios sobre nuevas estrategias terapéuticas⁴⁵. Para los pacientes con neoplasias hematológicas de localización esplénica, la SLP ha sido estimada en pocas series después de 3 a 5 años, y oscila entre el 50% y 80%^{33,46,47}. Respecto de la SG, se ha encontrado entre el 70% y 90%, luego de 3 y 5 años de evaluación, respectivamente. Estas cifras son inferiores a las obtenidas con el uso de quimioterapia y/o inmunoterapia^{16,36,47}.

En nuestra cohorte, los factores que resultaron determinantes de la SG presentan explicaciones plausibles. En primer lugar, la respuesta hematológica es sinónima al control de la enfermedad, por lo que es esperable que su obtención se traduzca en mejores expectativas de vida. La mejoría de la supervivencia a partir de la respuesta terapéutica también ha sido bien caracterizada en otras patologías neoplásicas

hematológicas, tales como en el mieloma múltiple⁴⁸. En segundo lugar, la relevancia de la dependencia transfusional podría explicarse desde la perspectiva de la fisiopatología de las condiciones hematológicas; el valor pronóstico de la dependencia transfusional ha sido ampliamente caracterizado en el síndrome mielodisplásico (SMD) y en la mielofibrosis, donde hace parte de las escalas pronósticas validadas internacionalmente, y es directamente proporcional a un comportamiento biológico más agresivo y a una mayor carga de la enfermedad clonal⁴⁹⁻⁵¹. Adicionalmente, la dependencia transfusional en ciertos casos puede resultar en complicaciones crónicas que podrían impactar la SG (p. ej., la sobrecarga de hierro)⁴⁹. Algunos grupos han utilizado el análisis de la supervivencia discriminada por la intensidad y carga de los requerimientos transfusionales sobre el pronóstico en los pacientes con SMD⁵², no obstante, esta variable puede afectarse por la edad, el sexo, las comorbilidades extrahematológicas, el estado funcional y el rendimiento de cada unidad transfundida⁵³. La dependencia transfusional preoperatoria no se ha considerado en general en los estudios de eficacia de la esplenectomía, por lo que nuestros resultados tendrán que confirmarse en el futuro.

Las limitaciones dominantes de este trabajo fueron la naturaleza retrospectiva del análisis que pudo promover un sesgo de información. Además, su carácter unicéntrico limitó el tamaño de la muestra, lo que puede impactar la validez externa de los resultados.

Por otra parte, el bajo número de pacientes con AH y neoplasias hematológicas podría resultar en asociaciones erráticas. La proporción de pérdida del seguimiento a largo plazo se estimó en un 10%, lo que resulta aceptable. Por último, es necesario determinar una forma estandarizada para estimar el impacto de la dependencia transfusional (posiblemente según su intensidad). Lo anterior es una prioridad de trabajo de varios grupos que estudian las enfermedades hematológicas, en las que el bazo puede desempeñar un papel fisiopatológico fundamental.

Conclusiones

La esplenectomía obtiene frecuencias importantes de respuesta hematológica en patologías hematológicas benignas y malignas, lo que se corresponde con una elevada SG y una baja tasa de complicaciones a largo plazo. La supervivencia se modifica principalmente por la dependencia transfusional preoperatoria, variable que debe explorarse como determinante en otros trabajos.

Agradecimientos

Los autores desean agradecer de forma especial al doctor Milton Lombana del Departamento de Hematología y Oncología del Hospital Militar Central de Bogotá por su colaboración y aportes tras la revisión del manuscrito.

Referencias

1. DeFrances CJ, Cullen KA, Kozak LJ. National Hospital Discharge Survey: 2005 annual summary with detailed diagnosis and procedure data. *Vital Health Stat.* 2007;(165):1-209.
2. Di Sabatino A, Carsetti R, Corazza GR. Post-splenectomy and hyposplenic states. *Lancet.* 2011;378(9785):86-97.
3. Kraus MD, Fleming MD, Vonderheide RH. The spleen as a diagnostic specimen: a review of 10 years' experience at two tertiary care institutions. *Cancer.* 2001;91(11):2001-9.
4. Sutherland GA, Burghard FF. The Treatment of Splenic Anaemia by Splenectomy. *Proc R Soc Med.* 1911;4(Clin Sect):58-70.
5. Kaznelson P. Splenogene thrombolytische purpura. *Wien Klin Wochn Schr.* 1916;29:1451-4.
6. Miwa S. Pyruvate kinase deficiency. *Prog Clin Biol Res.* 1990;344:843-52.
7. Neunert C, Lim W, Crowther M, Cohen A, Solberg L Jr, Crowther MA, et al. The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood.* 2011;117(16):4190-207.
8. Lechner K, Jäger U. How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults. *Blood.* 2010;116(11):1831-8.
9. Schilling RF. Risks and benefits of splenectomy versus no splenectomy for hereditary spherocytosis--a personal view. *Br J Haematol.* 2009;145(6):728-32.
10. Taher A, Isma'eel H, Cappellini MD. Thalassemia intermedia: revisited. *Blood Cells Mol Dis.* 2006;37(1):12-20.
11. Dameshek W, Rubio F Jr, Mahoney JP, Reeves WH, Burgin LA. Treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) with prednisone. *J Am Med Assoc.* 1958;166(15):1805-15.
12. Stasi R, Provan D. Management of immune thrombocytopenic purpura in adults. *Mayo Clin Proc.* 2004;79(4):504-22.
13. Coon WW. Splenectomy in the treatment of hemolytic anemia. *Arch Surg.* 1985;120(5):625-8.

14. Necheles TF, Finkel HE, Sheehan RG, Allen DM. Red cell pyruvate kinase deficiency. The effect of splenectomy. *Arch Intern Med.* 1966;118(1):75-8.
15. Iannitto E, Ambrosetti A, Ammatuna E, Colosio M, Florena AM, Tripodo C, et al. Splenic marginal zone lymphoma with or without villous lymphocytes. Hematologic findings and outcomes in a series of 57 patients. *Cancer.* 2004;101(9):2050-7.
16. Bennett M, Schechter GP. Treatment of splenic marginal zone lymphoma: splenectomy versus rituximab. *Semin Hematol.* 2010;47(2):143-7.
17. Berman RS, Yahanda AM, Mansfield PF, Hemmila MR, Sweeney JF, Porter GA, et al. Laparoscopic splenectomy in patients with hematologic malignancies. *Am J Surg.* 1999;178(6):530-6.
18. Cavaliere D, Torelli P, Panaro F, Casaccia M, Ghinolfi D, Santori G, et al. Outcome of laparoscopic splenectomy for malignant hematologic diseases. *Tumori.* 2004;90(2):229-32.
19. Rosen M, Brody F, Walsh RM, Tarnoff M, Malm J, Ponsky J. Outcome of laparoscopic splenectomy based on hematologic indication. *Surg Endosc.* 2002;16(2):272-9.
20. Franklin M, Gálvez-Hernández CA, Treviño J, Villegas-Cabello O, González-Ruvalcaba R, Díaz-Elizondo J. [Laparoscopic splenectomy: Twelve-year experience in two private institutions]. *Cir Cir.* 2006;74(6):443-7.
21. Delaitre B, Maignien B. [Splenectomy by the laparoscopic approach. Report of a case]. *Presse Med.* 1991;20(44):2263.
22. Maluenda GF, P PB, Braghetto MI, Csendes JA. Esplenectomía laparoscópica en enfermedades hematológicas. *Rev Med Chile.* 2004;132:189-94.
23. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol.* 2007;25(5):579-86.
24. Kojouri K, Vesely SK, Terrell DR, George JN. Splenectomy for adult patients with idiopathic thrombocytopenic purpura: a systematic review to assess long-term platelet count responses, prediction of response, and surgical complications. *Blood.* 2004;104(9):2623-34.
25. Schoonen WM, Kucera G, Coalson J, Li L, Rutstein M, Mowat F, et al. Epidemiology of immune thrombocytopenic purpura in the General Practice Research Database. *Br J Haematol.* 2009;145(2):235-44.
26. Balagué C, Targarona EM, Cerdán G, Novell J, Montero O, Bendahan G, et al. Long-term outcome after laparoscopic splenectomy related to hematologic diagnosis. *Surg Endosc.* 2004;18(8):1283-7.
27. Musser G, Lazar G, Hocking W, Busuttil RW. Splenectomy for hematologic disease. The UCLA experience with 306 patients. *Ann Surg.* 1984;200(1):40-5.
28. Ucar K. Clinical presentation and management of hemolytic anemias. *Oncology (Williston Park)* 2002;16(9 Suppl 10):163-70.
29. Habermalz B, Sauerland S, Decker G, Delaitre B, Gigot JF, Leandros E, et al. Laparoscopic splenectomy: the clinical practice guidelines of the European Association for Endoscopic Surgery (EAES). *Surg Endosc.* 2008;22(4):821-48.
30. Garratty G. The James Blundell Award Lecture 2007: do we really understand immune red cell destruction? *Transfus Med.* 2008;18(6):321-34.
31. Atkinson JP, Schreiber AD, Frank MM. Effects of corticosteroids and splenectomy on the immune clearance and destruction of erythrocytes. *J Clin Invest.* 1973;52(6):1509-17.
32. Akpek G, McAneny D, Weintraub L. Comparative response to splenectomy in Coombs-positive autoimmune hemolytic anemia with or without associated disease. *Am J Hematol.* 1999;61(2):98-102.
33. Thieblemont C, Felman P, Berger F, Dumontet C, Arnaud P, Hequet O, et al. Treatment of splenic marginal zone B-cell lymphoma: an analysis of 81 patients. *Clin Lymphoma.* 2002;3(1):41-7.
34. Troussard X, Valensi F, Duchayne E, Garand R, Felman P, Tulliez M, et al. Splenic lymphoma with villous lymphocytes: clinical presentation, biology and prognostic factors in a series of 100 patients. *Groupe Francais d'Hematologie Cellulaire (GFHC). Br J Haematol.* 1996;93(3):731-6.
35. Kalpadakis C, Pangalis GA, Dimopoulou MN, Vassilakopoulos TP, Kyrtonis MC, Korkolopoulou P, et al. Rituximab monotherapy is highly effective in splenic marginal zone lymphoma. *Hematol Oncol.* 2007;25(3):127-31.
36. Arcaini L, Orlandi E, Scotti M, Brusamolino E, Passamonti F, Burcheri S, et al. Combination of rituximab, cyclophosphamide, and vincristine induces complete hematologic remission of splenic marginal zone lymphoma. *Clin Lymphoma.* 2004;4(4):250-2.
37. Zimmer J, Andrés E, Noel E, Koumariou A, Blicklé JF, Maloisel F. Current management of adult idiopathic thrombocytopenic purpura in practice: a cohort study of 201 patients from a single center. *Clin Lab Haematol.* 2004;26(2):137-42.
38. Kumar S, Diehn FE, Gertz MA, Tefferi A. Splenectomy for immune thrombocytopenic purpura: long-term results and treatment of postsplenectomy relapses. *Ann Hematol.* 2002;81(6):312-9.
39. Kaya E, Erkurt MA, Aydogdu I, Kuku I, Ozhan O, Oner RI, et al. Retrospective analysis of patients with idiopathic thrombocytopenic purpura from Eastern Anatolia. *Med Princ Pract.* 2007;16(2):100-6.
40. Schwartz J, Leber MD, Gillis S, Giunta A, Eldor A, Bussel JB. Long term follow-up after splenectomy performed for immune thrombocytopenic purpura (ITP). *Am J Hematol.* 2003;72(2):94-8.
41. Wang T, Xu M, Ji L, Han ZC, Yang R. Splenectomy for adult chronic idiopathic thrombocytopenic purpura: experience from a single center in China. *Eur J Haematol.* 2005;75(5):424-9.
42. Pamuk GE, Pamuk ON, Baslar Z, Ongören S, Soysal T, Ferhanoglu B, et al. Overview of 321 patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. Retrospective analysis of the clinical features and response to therapy. *Ann Hematol.* 2002;81(8):436-40.
43. Gordon-Smith EC. Erythrocyte enzyme deficiencies. Pyruvate kinase deficiency. *J Clin Pathol Suppl. (R Coll Pathol)* 1974;8:128-33.
44. Tanaka KR, Paglia DE. Pyruvate kinase deficiency. *Semin Hematol.* 1971;8(4):367-96.
45. Dierickx D, Verhoef G, Van Hoof A, Mineur P, Roest A, Triffet A, et al. Rituximab in auto-immune haemolytic anaemia and immune thrombocytopenic purpura: a Belgian retrospective multicentric study. *J Intern Med.* 2009;266(5):484-91.
46. Mulligan SP, Matutes E, Dearden C, Catovsky D. Splenic lymphoma with villous lymphocytes: natural history and response to therapy in 50 cases. *Br J Haematol.* 1991;78(2):206-9.
47. Tsimberidou AM, Catovsky D, Schlette E, O'Brien S, Wierda WG, Kantarjian H, et al. Outcomes in patients with splenic marginal zone lymphoma and marginal zone lymphoma treated with rituximab with or without chemotherapy or chemotherapy alone. *Cancer.* 2006;107(1):125-35.
48. Chanan-Khan AA, Giral S. Importance of achieving a complete response in multiple myeloma, and the impact of novel agents. *J Clin Oncol.* 2010;28(15):2612-24.

49. Malcovati L, Porta MG, Pascutto C, Invernizzi R, Boni M, Travaglino E, et al. Prognostic factors and life expectancy in myelodysplastic syndromes classified according to WHO criteria: a basis for clinical decision making. *J Clin Oncol*. 2005;23(30):7594-603.
50. Pardanani A, Tefferi A. Prognostic relevance of anemia and transfusion dependency in myelodysplastic syndromes and primary myelofibrosis. *Haematologica*. 2011;96(1):8-10.
51. Elena C, Passamonti F, Rumi E, Malcovati L, Arcaini L, Boveri E, et al. Red blood cell transfusion-dependency implies a poor survival in primary myelofibrosis irrespective of IPSS and DIPSS. *Haematologica*. 2011;96(1):167-70.
52. Pereira A, Nomdedeu M, Aguilar JL, Belkaid M, Carrió A, Cobo F, et al. Transfusion intensity, not the cumulative red blood cell transfusion burden, determines the prognosis of patients with myelodysplastic syndrome on chronic transfusion support. *Am J Hematol*. 2011;86(3):245-50.
53. Malcovati L, Cazzola M. The relevance of transfusion-dependency in the prognostic assessment of patients with myeloid neoplasms. *Am J Hematol*. 2011;86(3):241-3.

Progenitores de los tumores cerebrales

Stem cells in brain tumors

► León Darío Ortiz^{1,2}, Andrés Felipe Cardona²⁻⁴, Hernán Carranza²⁻⁴, Henry Becerra³, Carlos Vargas²⁻⁴, Enrique Jiménez⁵, Fernando Hakim⁵, Nicolás Useche⁶, Sonia Bermúdez⁶, Jorge Otero²⁻⁴, Pilar Archila^{4,7}, Silvia Serrano⁴, Diana Torres^{4,8}, July Katherine Rodríguez⁴, Orlando Ricaurte⁹, Carmen Balaña¹⁰, Alejandro Blanco¹¹

¹Departamento de Oncología Clínica, Sección Neuro-oncología, Instituto de Cancerología, Clínica Las Américas (Medellín, Colombia).

²Investigador asociado Red Latinoamericana de Neurooncología (RedLANO).

³Grupo Oncología Clínica y Traslacional, Instituto de Oncología, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

⁴Fundación para la Investigación Clínica y Molecular Aplicada del Cáncer (FICMAC); investigador asociado ONCOLGroup.

⁵Departamento de Neurocirugía, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

⁶Departamento de Imágenes Diagnósticas, Sección Neurorradiología, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

⁷Departamento de Patología, Hospital de San José, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud (Bogotá, Colombia).

⁸Instituto de Genética Humana, Pontificia Universidad Javeriana (Bogotá, Colombia); investigador asociado German Cancer Research Center (DKFZ).

⁹Departamento de Patología, Universidad Nacional de Colombia (Bogotá, Colombia).

¹⁰Departamento de Oncología Médica, Sección Neuro-oncología, Hospital Germans Trias i Pujol, Instituto Catalán de Oncología (ICO) (Barcelona, España).

¹¹Departamento de Radioterapia, Hospital México (San José de Costa Rica, Costa Rica).

Resumen

El dogma sobre la génesis de las células es un evento insignificante en el cerebro de los mamíferos adultos, que ha influenciado nuestra percepción y la comprensión del origen y desarrollo de los tumores del sistema nervioso central. El descubrimiento de que las neuronas y la neuroglia se generan a lo largo de la vida a partir de células progenitoras proporciona nuevas posibilidades para definir la clonalidad y el comportamiento de las neoplasias cerebrales. La hipótesis detrás de este hallazgo está soportada por las modificaciones celulares y los mecanismos genéticos que controlan la neurogénesis normal y tumoral, lo que permite la identificación de nuevas estrategias terapéuticas.

Palabras clave: Tumor cerebral, glioma, célula progenitora, carcinogénesis, neurogénesis, desarrollo.

Abstract

The dogma that the genesis of cells is a negligible event in the adult mammalian brain has long influenced our perception and understanding of the origin and development of (central nervous system) CNS tumors. The discovery that new neurons and glia are produced throughout life from neural stem cells provides new possibilities for the candidate cells of origin of CNS neoplasias. The emerging hypothesis is that alterations in the cellular and genetic mechanisms that control adult neurogenesis might contribute to brain tumorigenesis, thereby allowing the identification of new therapeutic strategies.

Key words: Brain tumor, glioma, stem cells, carcinogenesis, neurogenesis, development.

Introducción

Según la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, Organización Mundial de la Salud), la incidencia estandarizada de los tumores primarios del sistema nervioso central a nivel mundial es de 15.8/100.000 y 17.2/100.000 habitantes para los hombres y mujeres, respectivamente¹. Globalmente, estas cifras se traducen en 190.000 casos nuevos por año, un 22% más que las neoplasias cerebrales diagnosticadas en 1960, lo que en la actualidad representa el 1.4% de todos los cánceres². En general, estas lesiones son más prevalentes entre los habitantes de los países

desarrollados (72%) y están constituidas, principalmente, por los tumores de estirpe glial^{1,3}.

Los gliomas representan la tercera causa de muerte por cáncer entre los hombres de edad media, y la cuarta para las mujeres con una edad comprendida entre los 15 y 34 años^{3,4}. A pesar del notorio desarrollo de la biología molecular tumoral, las estrategias terapéuticas dirigidas contra el control de esta enfermedad continúan siendo limitadas y solo se han incrementado en un 18% durante las últimas dos décadas, lo que les posiciona lejos de otras neoplasias más prevalentes⁵. En oposición, los modelos celulares de los tumores cerebrales

DATOS DE CONTACTO

Correspondencia: León Darío Ortiz, MD, MSc. Departamento de Oncología Clínica, Sección Neuro-Oncología, Instituto de Cancerología, Clínica Las Américas (Medellín, Colombia) y Andrés Felipe Cardona, MD, MSc, PhD^c. Grupo Oncología Clínica y Traslacional, Instituto de Oncología, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia). **Dirección:** carrera 80 diagonal 75B N° 2A 80-140. **Teléfono:** 340 9393. **Fax:** 342 3307. **Correos electrónicos:** leonortiz@une.net.co; a_cardonaz@yahoo.com

Fecha de recepción: 10 de abril de 2012. **Fecha de aprobación:** 15 de mayo de 2012.

Declaración de conflictos de interés: ninguno.

han permitido explorar nuevas áreas relacionadas con el conocimiento de las enfermedades malignas, entre ellas, la que tiene relación con el papel de las células progenitoras multipotenciales.

La supervivencia global (SG) de los pacientes con glioblastoma (GB) y la de aquellos con gliomas anaplásicos es de 8 a 15 meses y de 12 a 28 meses, respectivamente⁶; después de la publicación de Stupp y colaboradores, la gran mayoría de los centros con experiencia en neuro-oncología utilizan como tratamiento estándar del GB la temozolamida (TMZ) en concomitancia con radioterapia, seguida de seis meses de tratamiento con este agente alquilante, con lo que se logra una SG de 14.6 meses y una proporción de sujetos vivos a los dos años del 26%⁷. No obstante, más del 50% de los pacientes progresan durante el primer año, luego de lo cual suelen tener una SG menor a 20 semanas⁸.

La teoría de la neurogénesis posnatal de Altman y colaboradores, y el hallazgo de las células progenitoras de los tumores gliales en el 2002 han permitido ampliar el conocimiento respecto de nuevas intervenciones que podrían modificar el comportamiento del microambiente tumoral glial⁹. Un ejemplo representativo es la evidencia de que la mayoría de las células pluripotenciales que presentan el marcador de superficie CD133 se asocian con un microambiente que favorece la elevación de los niveles de VEGF (10 a 20 veces sobre el valor normal) y también la sobreexpresión del receptor VEGFR-2⁹. De forma similar, estudios con xenogramas murinos demostraron en los gliomas de alto grado un incremento significativo de la angiogenina, interleuquina 8 (IL-8), interleuquina 6 (IL-6), y en los factores de crecimiento derivado de los fibroblastos (FGF), similar a la insulina (IGF-IR), producido por las plaquetas (PDGF) e inducido por la hipoxia (HIF)¹⁰. En respuesta, los precursores de las células tumorales gliales y sus descendientes maduros incrementan la sensibilidad al VEGF, especialmente en presencia de acidosis, fenómeno normal en las empalizadas típicas del GB¹¹.

A continuación, se realiza una revisión detallada de la información publicada sobre las células progenitoras de los gliomas y meduloblastomas, y su posible relación con la respuesta a la quimiorradiación y a futuras intervenciones terapéuticas. De igual forma, se discute el papel de estas en la propagación de la enfermedad, y se proporciona un análisis de las

propiedades funcionales de las células progenitoras neuronales normales y de sus homólogas tumorales que pierden su capacidad regulatoria durante el proceso de neurogénesis.

Formato utilizado para la búsqueda de información

La información consignada en esta revisión fue extraída a partir de búsquedas de la literatura médica practicadas en las bases de datos Medline, Biosis y Embase, desde 1966, 1992 y 1974, respectivamente, hasta el 1º de julio del 2012, usando la plataforma Ovid (Ovid Technologies, Inc., US) y múltiples términos clave. Se diseñaron estrategias adicionales para las bases de datos Lilacs y Cinhal, usando criterios similares; también, se recopilaron las referencias más representativas presentadas durante los últimos cinco años en los congresos de la American Society of Clinical Oncology (ASCO), de la European Society of Medical Oncology (ESMO), de la Society of Neuro-Oncology (SNO), de la European Association for Neuro-Oncology (EANO) y de la American Association for Cancer Research (AACR), más algunos datos obtenidos del motor general Google.

Identificación de las células progenitoras en el cerebro y su relación con los tumores gliales

El cáncer suele desarrollarse a partir de mutaciones que ocurren en pocas células, o incluso, a partir de solo un elemento fundador; estas unidades anormales pierden la capacidad de autorregulación, lo que repercute en su potencial incontrolado de proliferación¹². Dos modelos hipotéticos explican este fenómeno: el primero es el estocástico, que predice que todas las células tienen una capacidad homogénea para iniciar una neoplasia que usualmente presenta apartados en los que sus elementos se encuentran activados de forma sincrónica y constitutiva¹². El segundo modelo es el jerárquico, que asume que solo un subgrupo de células presentes en el tumor tiene cierto potencial para proliferar y generar nuevos focos neoplásicos, mientras el resto actúa como soporte o representa células tumorales bien diferenciadas o terminales. Este modelo explica los hallazgos de las células progenitoras

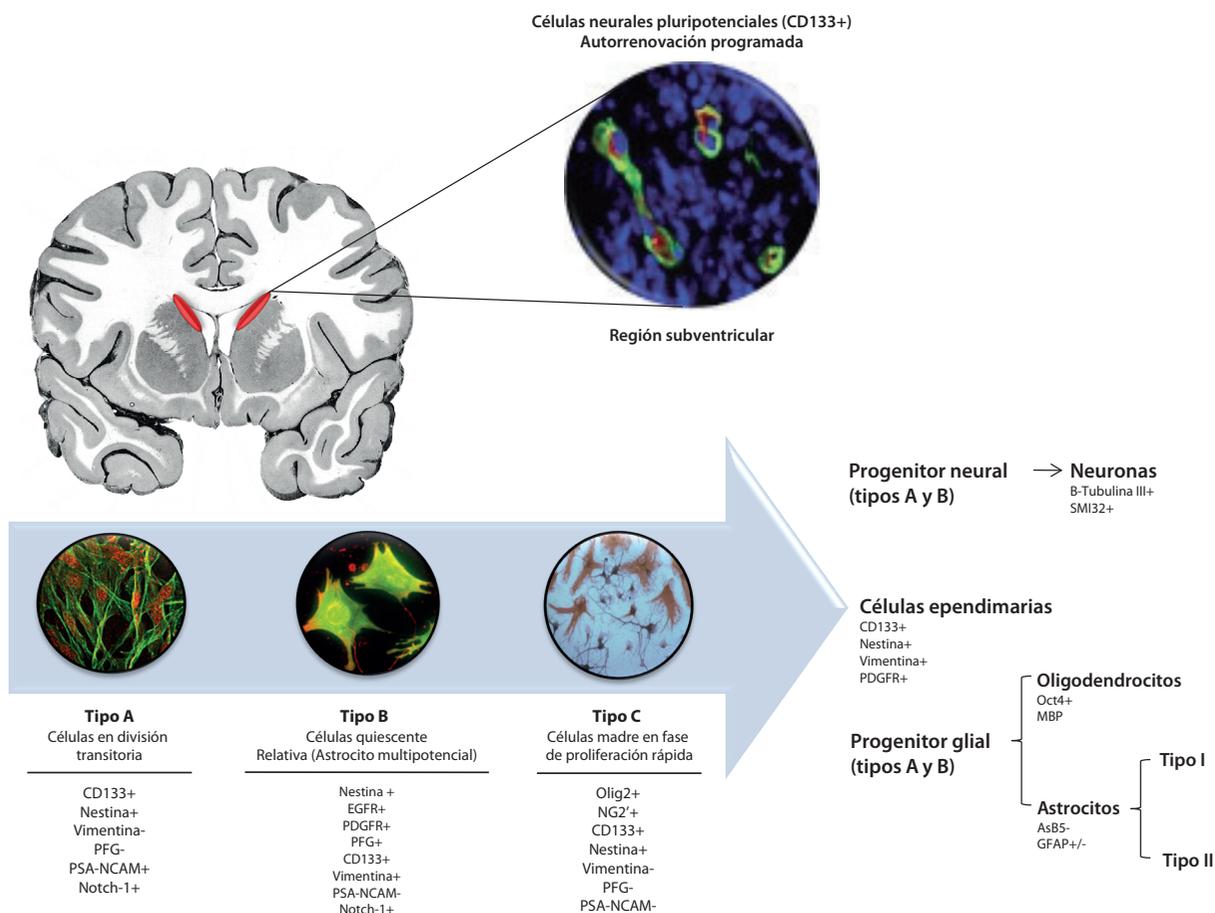
pluripotenciales en la leucemia mieloide aguda, en los tumores cerebrales, en los cánceres de mama, próstata y colon^{13,14}.

Hace solo 17 años, Nottebohm y colaboradores reportaron el descubrimiento de tejido embrionario neural en el parénquima cerebral de las aves, seguido por varios estudios complementarios que evidenciaron el mismo hallazgo en roedores, simios y humanos¹⁵. Por consiguiente, es un hecho que la neurogénesis persiste durante la adultez, particularmente a nivel del giro dentado del hipocampo (en el hilio y en varios planos de la lámina granular) y en la región superior profunda de los ventrículos laterales, vecina al cuerpo estriado (figura 1). Estas células constituyen cerca del 0.2% de los elementos formes del encéfalo, primitivamente pertenecen al telencéfalo, y generalmente expresan la proteína fibrilar glial (GFAP, por su sigla en inglés)¹⁶. Poseen un papel putativo y son capaces de regenerar la estructura neurogenética in vivo e in vitro; usualmente,

disfrutaban de un estado de quiescencia relativa con un ciclo celular cercano a los 28 días (células tipo B o *astrocitos pluripotenciales*)¹⁷.

Habitualmente, las células progenitoras pluripotenciales tienen la capacidad de generar otros elementos progenitores de segundo orden que se dividen cada 12 horas (fase de proliferación rápida); estas células han sido denominadas del tipo C (*precursores inmaduros*), mantienen la multipotencialidad y producen otros precursores neuronales con mayor madurez designados como células tipo A (*neuroblastos migrantes*), capaces de migrar en grupo a través de la porción rostral del ventrículo lateral hacia el bulbo olfatorio, donde se integran como nuevas interneuronas en las diferentes capas del córtex¹⁸ (figura 1). La región productora subventricular se encuentra preservada en los mamíferos euterios incluyendo al hombre, solo que, en este último, el desplazamiento celular no es grupal, sino individual, y sigue un destino que aún no ha sido aclarado¹⁹. Análogamente

Figura 1. Proceso relacionado con el desarrollo y evolución de las células progenitoras de los tumores cerebrales.



Fuente: tomado con autorización de Cardona AF, Balañá C, Torres D, Becerra H, Ortiz LD, Fadul CE. Stem cells in brain tumorigenesis and their impact on therapy. Curr Stem Cell Res Ther 2011;6(4):339-49.

a la zona subventricular, la región granular hipocámpal amplifica algunas células precursoras menos conocidas denominadas tipo D, debido a su capacidad migratoria limitada (cortas distancias)¹⁹.

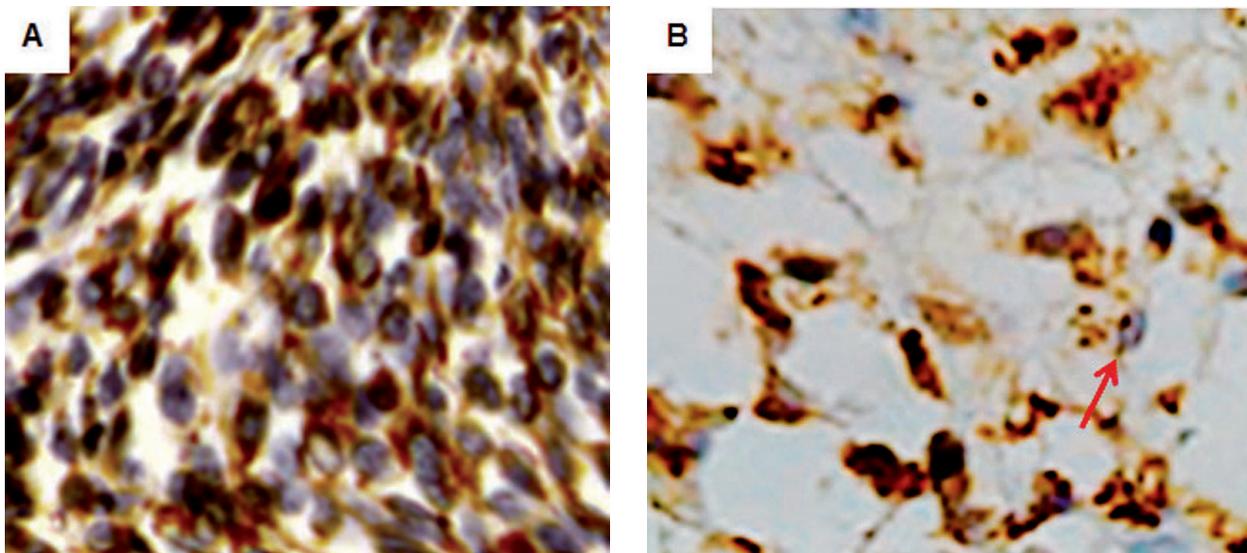
Los precursores celulares normales y tumorales comparten la expresión de múltiples marcadores, la capacidad de regeneración ilimitada, la proliferación exponencial y la de diferenciación abierta. Adicionalmente, presentan una actividad similar en sus telomerasas, en la resistencia a la apoptosis, y una mayor capacidad para el transporte de sustancias a nivel de la membrana²¹. Esta última característica facilita la exportación de moléculas antineoplásicas por medio de proteínas pertenecientes a la familia ABC como la MDR-1 (ABCB1 o glicoproteína P), MRP-1 (ABCC1), ABCA2, ABCA3 y ABCG2^{20,21}.

Desde una perspectiva neuroquímica, las células tipo B expresan otros filamentos intermedios, como la vimentina y la nestina, y son característicamente negativas para los marcadores neuronales PSA-NCAM y TuJ1²⁰; con frecuencia, expresan PDGFR- α , que parece actuar como regulador del balance para la diferenciación entre los oligodendrocitos y las neuronas durante la fase de neurogénesis asimétrica. Las células tipo B también son altamente sensibles al estímulo del factor de crecimiento epidérmico (EGF) y del FGF2¹⁹, y demuestran positividad constitutiva para el CD133 (*prominina-1*), una glicoproteína de superficie de 130 KDa con cinco dominios transmembrana²⁰. Existen varias isoformas del CD133 reguladas vía metilación,

no obstante, su función puntual y la regulación de su transcripción son aún desconocida^{21,22}. Algunos reportes sugieren que su posición en la membrana tiene relación con la organización dinámica de esta estructura celular, lo que favorece la determinación de la polaridad celular, la migración y la interacción con otras células vecinas, especialmente, con aquellas pertenecientes al endotelio tumoral²³.

El marcador CD133 ha sido aislado de las células progenitoras normales, en aquellas de los tumores gliales y en otras neoplasias (modelo de la "neurosfera")²⁴. Las células positivas para CD133 (CD133⁺) presentan una serie de mecanismos que contribuyen con la activación preferencial de los puntos regulatorios del ciclo celular, aumentando su tolerancia al daño inducido por la radioterapia²⁵. Este hallazgo y otras vías de activación anormal, como la Wnt/b-catenina, Notch, sonic-hedgehog (SHh), PTEN y Bmi-1, permiten comprender porque las células progenitoras de los tumores gliales son resistentes a la radiación²⁶. Estas células también se caracterizan por exhibir resistencia primaria a la quimioterapia (carboplatino, paclitaxel y etopósido). Un estudio que valoró la expresión génica del BCRP1/ABCG2 y de la MGMT en los progenitores gliales determinó una elevación significativa de su función, al igual que varios supresores de la apoptosis, como el Bcl-2, FLIP, BCL-XL, y de algunos inhibidores de proteínas proapoptóticas, como el XIAP, cIAP1, cIAP2, NAIP y survivina²⁷. Además, la inhibición

Figura 2. a) Expresión de nestina en el tejido neural del estroma de un glioblastoma. **b)** Expresión de CD133 (flecha) en una célula de estirpe glial incluida en un glioblastoma secundario.



Fuente: cortesía Fundación para la Investigación Clínica y Molecular Aplicada de Cáncer – FICMAC (Bogotá, Colombia).

de las caspasas 3, 7 y 9 es significativamente superior en los GB recurrentes ricos en células CD133⁺ que en sus homólogos, en los que se encuentra un conteo menor²⁸.

La nestina es un filamento intermedio de la clase IV que se produce en grandes cantidades en las células progenitoras normales y tumorales durante el desarrollo del cerebro y en las neoplasias gliales^{29,30}. Constituye parte del citoesqueleto que se encarga de la morfología celular y facilita la adhesión, la proliferación y la migración. En los adultos, la nestina se expresa en las células progenitoras subventriculares, en algunos remanentes cercanos a los plexos coroides y en el prosencéfalo³¹. De igual forma que en los gliomas de alto grado, la nestina se reexpresa en múltiples linajes celulares del cerebro durante otras circunstancias, como la isquemia aguda, el trauma y la meningoencefalitis³². En las neoplasias, la coexpresión de nestina y vimentina se relaciona con un incremento sustancial de la capacidad invasora (asociación con multifocalidad), de la facilidad para reparar agresiones externas (la nestina nuclear regula la cromatina) y de la motilidad. Esta combinación podría ser útil para definir el pronóstico de la enfermedad, en especial, porque su presentación se relaciona con un fenotipo más agresivo específico de los tumores ricos en células progenitoras³³. La figura 2 muestra la expresión de CD133 y nestina en tejido tumoral derivado de una neoplasia glial de alto grado.

Cambios moleculares que favorecen a las células progenitoras tumorales

Las células progenitoras de los tumores cerebrales presentan ciertas características que las diferencian de las unidades funcionales normales. Todas deben tener la capacidad de desarrollar neoplasias después de la implantación ortotópica (si el tumor es una copia fenotípicamente idéntica a la neoplasia original), presentar una capacidad sustancial para autorregenerarse, exhibir alteraciones cariotípicas o genéticas que faciliten la diferenciación aberrante, y ser capaces de mostrar policlonalidad²⁹. Recientemente, Prada y colaboradores establecieron un modelo murino que combinó mutaciones en el *p53* y en el gen específico de la neurofibromatosis (*NF1*), capaz de activar la vía Ras para favorecer la formación terminal de astrocitomas. El

estudio encontró que la delección de uno o varios genes supresores de tumor y/o la activación de oncogenes, como *Ras* y *Akt*, en las células indiferenciadas que expresan CD133 o nestina resultaban en la formación de tumores gliales³⁰.

El efecto del PDGF sobre las células progenitoras positivas para nestina deriva en el desarrollo de gliomas, manifestación equivalente a la que ocurre cuando se combina la pérdida del *CDKN2A*, que codifica para los genes supresores *INK4a* y *ARF*, o con el aumento en la expresión del EGFR en las células inmaduras y en las terminales³⁴. Además, durante la embriogénesis, se ha reconocido en los progenitores neurales la expresión de la isoforma A del PDGFR, mientras sus homónimos maduros (glia y neuronas) manifiestan en superficie el ligando. El PDGFR-B se encuentra en pequeñas cantidades en las células multipotenciales, pero suele aumentar con la diferenciación y maduración celular, especialmente en los oligodendrocitos y en presencia del PDGFR-A fosforilado³⁵. La infusión de PDGF-A en la región subventricular de ciertos roedores suprime la producción de los neuroblastos y genera una hiperplasia de las células del tipo B que termina, con frecuencia, en la producción de astrocitomas y oligodendrogliomas. Adicionalmente, la activación de la vía de señalización del PDGF en las regiones del cerebro ricas en células precursoras contribuye con la tumorigénesis, que se ve favorecida por la estimulación autocrina y paracrina a través del PDGF-A, el PDGF-B y el factor de transcripción OLIG2^{35,36}.

Algunas de las vías de señalización incluidas en la evolución de los progenitores y en su diferenciación se encuentran alteradas en los gliomas. La vía Notch es esencial para el mantenimiento de la arquitectura celular tumoral, se expresa desde la embriogénesis y suele interactuar normal y anormalmente con múltiples ligandos, como DLL-1, 3 y 4, y con las proteínas Jag-1 y 2. En los progenitores tumorales, los receptores Notch actúan como gatillo para el estímulo mediado por la enzima convertidora del factor de necrosis tumoral alfa (TACE) y por la C-secretasa, que, posteriormente, se encargaran de la transducción de señales al núcleo para desencadenar respuestas a través de la transcripción del factor CBF1/Su(H)/LAG1 (CSL)³⁷. Esta interacción resulta en el desplazamiento del correpressor CoR y en el reclutamiento de un coactivador llamado CoA, que promueven la activación de genes blanco encargados

de evitar la diferenciación y la apoptosis³⁸. Por otra parte, la vía de señalización Notch previene la degradación y ubiquitinación de la nestina en las células progenitoras y coopera con K-RAS para promover su unión en colonias^{37,39}.

Un estudio demostró que la inhibición del receptor Notch-1 induce la apoptosis e inhibe la proliferación de células gliales tumorales que expresan CD133⁴⁰, lo que constituye una magnífica posibilidad para el control de los elementos encargados de la resistencia al tratamiento, ya que en la actualidad disponemos de compuestos que actúan como señuelos, o con los inhibidores de la g-secretasa con cebos intracelulares dirigidos contra MAML-1, o simplemente con inhibidores de la vía Ras⁴¹.

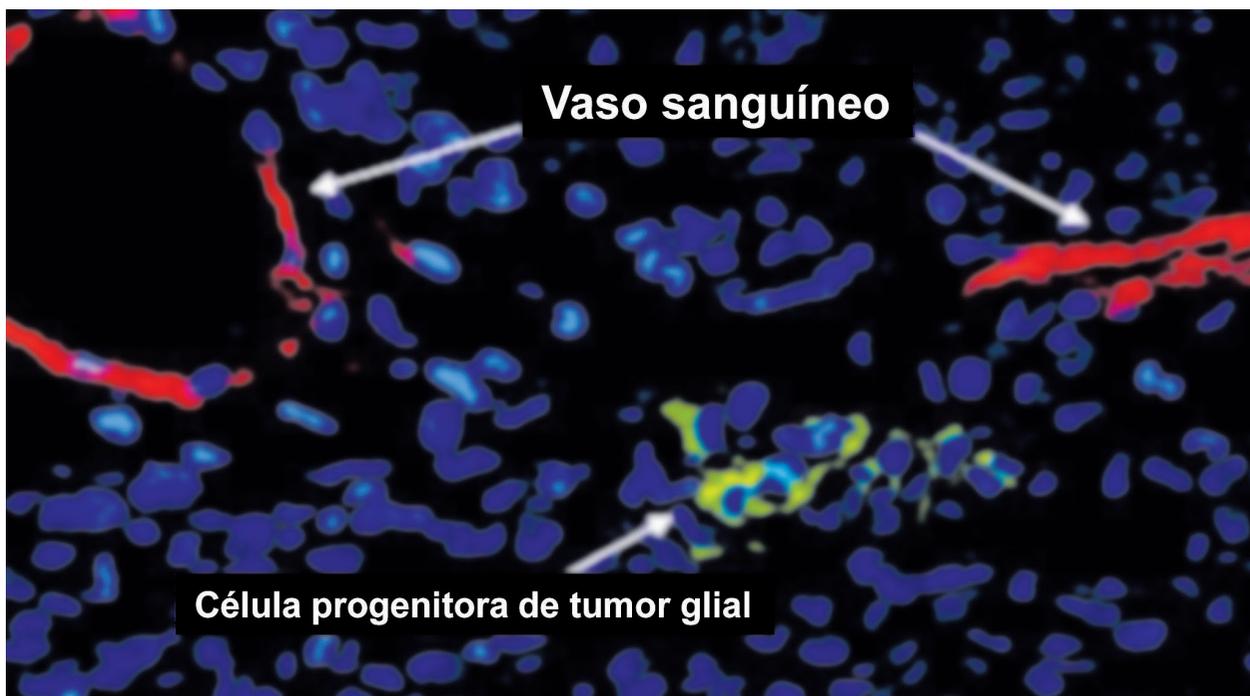
Siguiendo los modelos de variación genética de la neurosfera, Singh y colaboradores inocularon células aisladas de tejido tumoral (gliomas de alto grado) en el cráneo de roedores inmunosuprimidos, encontrando que el número mínimo de células requeridas para reproducir una neoplasia era de 10⁵; sin embargo, cuando el experimento se reprodujo utilizando células CD133⁺ estimuladas por EGF, el número requerido se redujo hasta 100^{23,42}. Es importante resaltar que no solo las células progenitoras neurales y neoplásicas expresan

CD133, también lo hacen las células endoteliales que hacen parte de los vasos sanguíneos necesarios para el desarrollo del cerebro normal y para la génesis tumoral^{43,44}.

El microambiente de las células progenitoras en los tumores gliales

La existencia de las células progenitoras de la leucemia mieloide aguda permitió determinar la importancia del microambiente para mantener su función y estado quiescente^{9,12,14}. El nicho perivascular de los progenitores tumorales gliales está altamente especializado y depende en gran medida de los capilares, que son semejantes a los encontrados en la región periventricular del cerebro humano. La proximidad con las células endoteliales permite la comunicación intercelular que se ve enriquecida por el factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), el factor de crecimiento endotelial tipo C (VEGFC) y el factor pigmentado derivado del endotelio⁹, moléculas que facilitan principalmente la migración y proliferación neoplásica. También, hay evidencia consistente de que la matriz extracelular aporta puntos clave para la regulación de los precursores tumorales a través de la tenascina-C, un gen que se

Figura 3. Localización de las células progenitoras en el nicho vascular. Tinción con el anticuerpo anti-L1CAM diseñado para primordios de glioblastoma (verde) y anti-CD31 relacionado con las células endoteliales.



Fuente: tomado con autorización de Cheng L, Bao S, Rich JN. Potential therapeutic implications of cancer stem cells in glioblastoma. *Biochem Pharmacol.* 2010;80(5):654-65.

expresa para generar propiedades antiadhesivas en las células de la cresta neural, bloqueando la interacción de la fibronectina con los sindecanos⁴⁵. Además, el condroitin-sulfato mantiene estimulada a la célula progenitora para mantener su estado primitivo, impidiendo la evolución de su progenie.

A pesar de que el comportamiento del nicho afecta la biología de las células progenitoras en el tumor, la comunicación no es unidireccional; varios estudios han demostrado la habilidad que tienen los precursores para promover la replicación de las células endoteliales, incluyendo el estímulo necesario para la formación de estructuras neovasculares complejas⁴⁶ inducido mediante el incremento de los niveles de VEGF y de BDNF^{9,47}. Como complemento, Calabrese y colaboradores encontraron, en estudios de rastreo con microscopía multifotón láser, que las células CD133⁺/nestina⁺ siempre se encuentran en íntima proximidad con el endotelio vascular de los GB, meduloblastomas, ependimomas y oligodendrogliomas⁴⁷. La figura 3 muestra la proximidad de las células progenitoras con el nicho vascular.

Clásicamente, las descripciones patológicas de los gliomas de alto grado relatan un crecimiento vascular desorganizado y aberrante, generado de forma aleatoria para suplir la voracidad del tumor, sin embargo, varias revisiones publicadas recientemente explican que esta arquitectura se dispone en forma alterada para servir como aposento a los precursores tumorales y a sus análogos vasculares^{9,14}. Las células progenitoras gliales y su descendencia están capacitadas para entrar en los vasos sanguíneos del cerebro usando el efecto conocido como "satelitosis perivascular", no obstante, es infrecuente encontrar lesiones extraaxiales. Clínicamente, la densidad microvascular del GB se correlaciona con el pronóstico de la enfermedad⁴⁸, factor que contribuye con la respuesta observada a los antiangiogénicos, posiblemente dependientes del VEGF generado en elevadas cantidades por las células CD133⁺⁴⁹. Es más, hay datos que demuestran que las células del GB positivas para CD133 pierden su habilidad para reclutar células endoteliales y formar vasos sanguíneos después de ser expuestas a bajas concentraciones de bevacizumab (Avastin[®])⁹. Es probable que este efecto sea controlado, al menos en parte, por la disminución en la expresión de VEGF, VEGFR2 y angiopoyetina-2 (Ang-2)⁹.

Superando la perspectiva preclínica, es claro que tres medicamentos tienen un efecto promisorio sobre

los gliomas de alto grado debido a su potencial inhibitorio sobre el nicho de los progenitores tumorales. El bevacizumab, en curso de ser evaluado en modelos multicéntricos fase III; el cediranib (AZD2171, Recentin[®]), un agente que actúa sobre los receptores 1, 2 y 3 del VEGF, y que ha demostrado una mediana de SLP y SG en pacientes con gliomas de alto grado recurrentes alrededor de los 110 y 210 días, respectivamente⁵⁰; y el cilengitide, dirigido contra las integrinas $\alpha\beta6$, $\alpha\beta5$ y $\alpha\beta3$ ⁵¹. Como se explicó previamente, el efecto de estas moléculas puede ser el resultado de la normalización de los vasos tumorales o la depleción del riego sanguíneo, que interfiere con el mantenimiento y la supervivencia de las células precursoras y terminales.

Papel de las células progenitoras en los meduloblastomas

Los dos epitelios germinales del cerebelo se encuentran en la zona ventricular profunda a la altura del velo de la médula posterior y en la capa más externa del metencéfalo⁵². La matriz de la primera de estas regiones da origen a varios linajes celulares neuronales y gliales, y la segunda solo produce las células granulares, el elemento más numeroso encontrado en todo el prosencéfalo⁵³. En los seres humanos, el cenit de crecimiento del cerebelo ocurre tardíamente en comparación con el resto del sistema nervioso central, y su principal etapa de desarrollo está en el tercer trimestre de la gestación, a diferencia de los mamíferos más rudimentarios, en los que este evento ocurre durante las dos semanas siguientes al nacimiento⁵³. Sin embargo, en los niños, la evolución de esta estructura neural se encuentra hasta el final del primer año de vida, y parece ser dependiente de la presencia de células CD133⁺, concentradas principalmente en la sustancia blanca y en el labio rómbico⁵⁴.

La evidencia que conecta las células neurales pluripotenciales con los elementos tumorales del meduloblastoma es meramente correlativa y se sustenta en la expresión de calbindina-D entre los precursores del cerebelo normal y su hallazgo en el 50% de los meduloblastomas, especialmente, en aquellos del tipo clásico. En contraste, las lesiones nodulares o desmoplásicas expresan el marcador p75, lo que sugiere un origen tumoral dual. Esta hipótesis está soportada por el comportamiento de los meduloblastomas inducidos

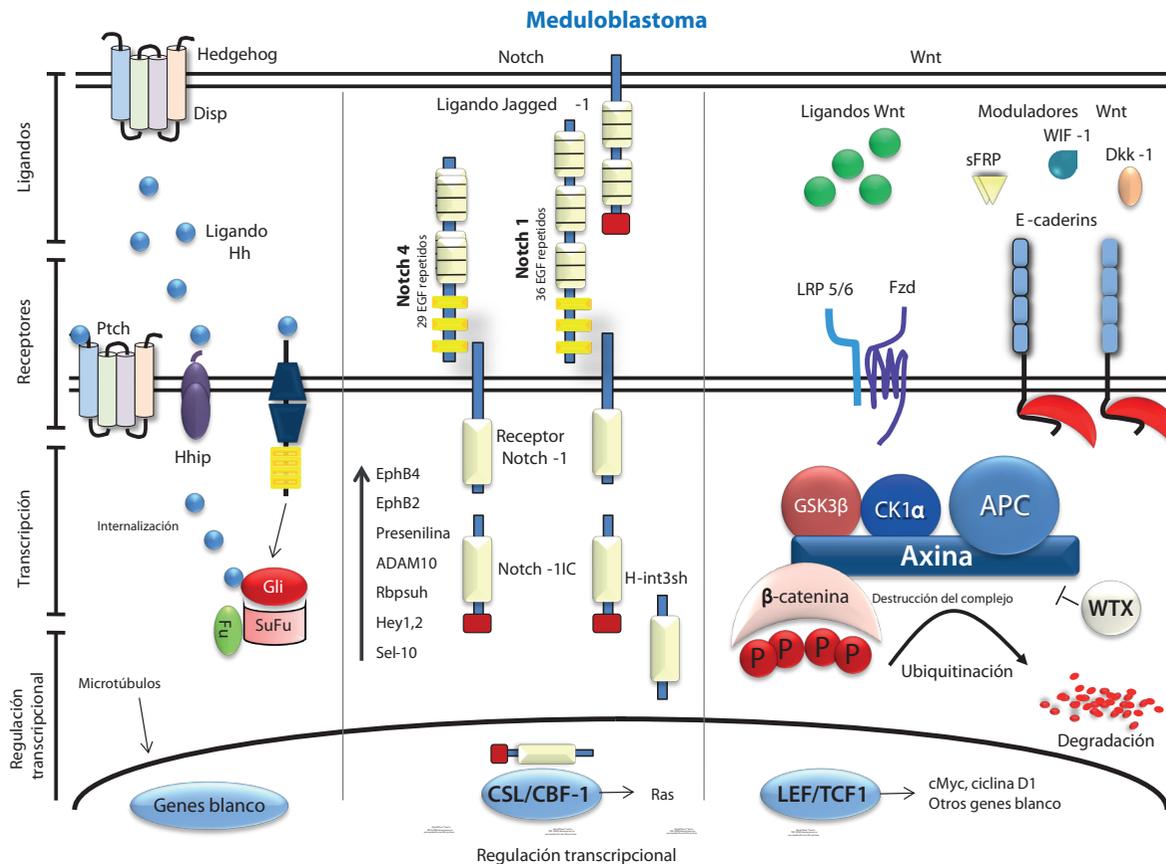
en modelos murinos, que, con frecuencia, expresan CD133+, pero que presentan una evolución disímil de determinada, entre otros, por la activación aberrante del gen Hedgehog (Hh)⁵⁵.

La vía del Hh regula la evolución del cerebelo en muchas especies, pero tiene una importancia cardinal entre los seres humanos, donde promueve la migración de los precursores de las células granulares y su proliferación, incitada por la producción del ligando para Hh en las células de Purkinje. Por otra parte, las mutaciones en el receptor PTCH que resulta en la activación constitutiva de la vía Hh se encuentran en una gran cantidad de sujetos con meduloblastoma esporádico y en aquellos que presentan el síndrome de Gorlin, una entidad autosómica dominante caracterizada por la coexistencia del carcinoma de células basales y de tumores neuroectodérmicos primitivos^{53,56}. Aproximadamente el 14% de los murinos heterocigotos para *PTCH* desarrollan meduloblastomas, en los que, con frecuencia, se encuentra una alteración primaria de los precursores de las células granulares y también

cambios en los genes *SMO* y *SUFU*, generadores de este tipo de neoplasias in vivo⁵⁷. Otros modelos animales han demostrado que los meduloblastomas iniciados por cambios genéticos en vías diferentes a Hh también resultan en la activación de esta vía de señalización; en particular, la inactivación de CXCR6, que resulta en la expresión de Gli1, Gli2, Ptc2 y Sfrp1, proteínas evidentes en los meduloblastomas que son susceptibles a la inhibición de la Hh con moléculas como la ciclopamina o con inhibidores específicos (Hh-Antag)⁵⁸.

Otra vía de señalización alterada en los meduloblastomas esporádicos y heredados es la Wingless/Wnt, que regula la proliferación de las células progenitoras en la región ventricular profunda y en el hipocampo⁹. La pérdida del Wnt1, un efector clave de la b-catenina, causa severas anomalías en el cerebro medio y en el cerebelo, y se encuentra sobre-expresado en los meduloblastomas clásicos⁵⁹. Aún no está claro su papel en la regulación de los progenitores pluripotenciales del cerebelo, pero parece depender de mutaciones

Figura 4. Principales vías de señalización de los precursores neurales del cerebelo y de los meduloblastomas.



similares a las identificadas en los pacientes con síndrome de Turcot, una condición autosómica recesiva causada por la pérdida de la función del gen de la poliposis adenomatosa, que se demuestra en el 5% de los meduloblastomas⁵⁹. En un pequeño subgrupo de pacientes con tumores neuroectodérmicos primitivos, también se encontraron mutaciones y la disminución en la expresión de la *Axina-2*, gen que actúa como regulador negativo del Wnt y que ha sido detectado en una pequeña fracción de pacientes con meduloblastoma⁶⁰.

La translocación nuclear de la b-catenina resultante de la activación de la vía Wnt se encuentra en el 25% de los pacientes con meduloblastoma, y, usualmente, corresponde con una elevada presencia de células CD133⁺. Paradójicamente, y en contra de lo que ocurre en los gliomas de alto grado, su presencia se asocia con una evolución clínica favorable relacionada a la ausencia de alteraciones en el Hh y por aberraciones del cromosoma 17⁶¹.

La vía de señalización Notch se encuentra activa en las células progenitoras de la región ventricular profunda y en el segmento rómbico, y promueve su proliferación y supervivencia inhibiendo la diferenciación. No obstante, las cuatro isoformas del receptor no ocasionan las mismas variaciones en el cerebelo; por ejemplo, el Notch-2 estimula la proliferación de los progenitores de las neuronas granulares, mientras el Notch-1 se asocia con su diferenciación, hallazgo que se mantiene en las formas clásicas del meduloblastoma⁶². Algunos tumores neuroectodérmicos primitivos demuestran ganancias en el loci de Notch-2 y coexpresión de la vía Hes1, que se correlacionan clínicamente con un pronóstico adverso, mientras otros estudios han evidenciado la regulación alterna y anormal del Notch vía Hh⁵³. Finalmente, la hipoxia y los productos proteicos que este suceso genera promueven la proliferación de los progenitores celulares del cerebelo estimulados por la vía Notch, hallazgo que ha sido confirmado en el meduloblastoma⁶³. La figura 4 incluye las principales vías de señalización de los precursores neurales del cerebelo y de los meduloblastomas.

Varias vías accesorias podrían promover la generación de meduloblastomas a partir de las células progenitoras neurales. El gen *REN*, localizado en el cromosoma 17, promueve la diferenciación de los precursores granulares suprimiendo las señales de Hh, alteración que resulta frecuente en el meduloblastoma⁵³. El oncogén

N-myc, que juega un papel esencial en el crecimiento del cerebelo, constituye un blanco primario de la vía Hh en el meduloblastoma y se encuentra amplificado en la variante de células grandes, donde favorece un desenlace clínico negativo. Otros factores de transcripción asociados en los procesos más primitivos de la célula progenitora del cerebelo y en su proyección tumoral son el RE-1, OTX2 y BMI1⁵³. Un reporte reciente describió el papel ponderal de las alteraciones moleculares de las células CD15⁺/CD133⁻ como efector de los tumores neuroectodérmicos primitivos del cerebro⁶⁴.

Implicaciones terapéuticas de los progenitores tumorales

Un estudio que incluyó 44 pacientes con GB tratados con cirugía seguida de quimiorradiación con TMZ y el mismo agente de quimioterapia como adyuvancia evaluó el papel pronóstico de la expresión del marcador CD133 y la capacidad del tumor para generar células CD133⁺ en cultivos a largo plazo. La inmunohistoquímica no demostró ningún valor, mientras la capacidad para generar precursores in vitro se relacionó con una reducción significativa en la SG (HR 2.50, IC95% 1.04-6.06; p = 0.004), que fue de 8 (IC95% 4.0-11.5) y 15 meses (IC95% 11.0-19.0) entre los tumores con mayor y menor cantidad de células CD133⁺ (p = 0.0002), respectivamente. De igual forma, la mediana de la supervivencia libre de progresión (SLP) fue de 3.5 meses para los GB con mayor relación de CD133⁺ respecto de los deficientes (9.0 meses; p = 0.0001) y el conteo de CD133⁺ también se asoció con un mayor riesgo de muerte (HR 1.65, IC95% 1.05-2.60; p = 0.0285)⁶⁵. Estos hallazgos sustentan la búsqueda activa de nuevas estrategias terapéuticas dirigidas contra los precursores de los tumores cerebrales y su microambiente.

Las intervenciones terapéuticas dirigidas contra los progenitores celulares de los tumores cerebrales pueden dividirse en tres grupos: el primero, encaminado a provocar la diferenciación de los precursores; el segundo, diseñado para eliminar las células progenitoras inhibiendo su multipotencialidad y quiescencia; y el tercero, destinado a agredir el microambiente tumoral^{66,67}. Las terapias encargadas de provocar la diferenciación de los progenitores concentran su eficacia en la capacidad de revertir el estado de malignidad, lo que repercute

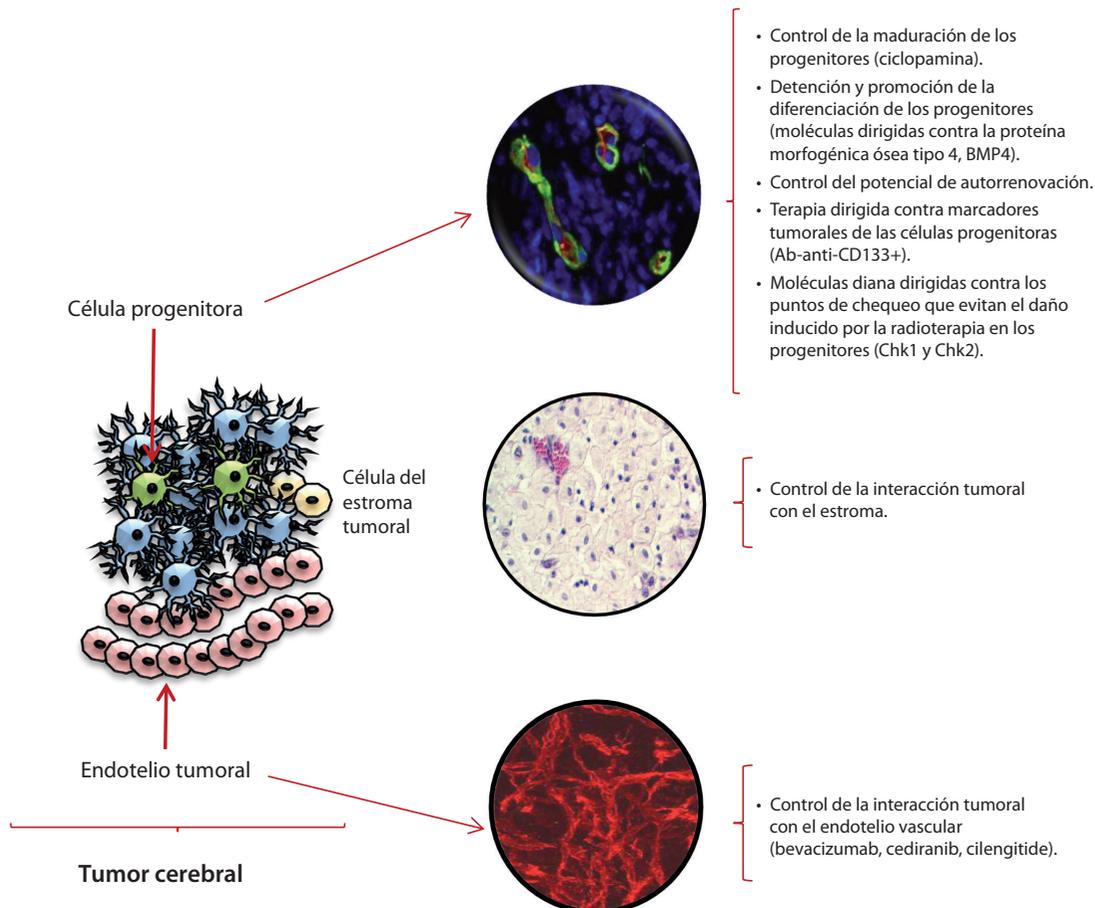
principalmente en la propiedad de autorregeneración⁶⁸. Hasta el momento, dos grupos de medicamentos afectan la diferenciación, los derivados del ácido retinoico y los compuestos dirigidos contra los cambios epigenéticos (dehacetiladores de histonas).

Entre los compuestos destinados a eliminar las células progenitoras, destaca la terapia dirigida contra marcadores tumorales de las células progenitoras (Ab-anti CD133⁺)⁹, los inhibidores de la vía Hh (ciclopamina, NBT-272, vismodegib)⁶⁹, los agonistas del PPAR-gamma⁷⁰, la TMZ⁷¹, los inhibidores mTOR (sirolimus, everolimus, temsirolimus, deforolimus)⁷², los derivados de la proteína morfogenética ósea (BMP)⁷³, las moléculas diana dirigidas contra los puntos de chequeo que evitan el daño inducido por la radioterapia en los progenitores (Chk1 y Chk2)¹⁵, el imatinib⁷⁴ y los inhibidores de la superfamilia ABCB⁷⁵. Así mismo, es importante mencionar los medicamentos que modifican el microambiente tumoral, entre otros, los antiangiogénicos, como el bevacizumab⁴⁷, el cediranib⁵⁰

y el cilengitide⁷⁶. De igual modo, los inhibidores de la PI3K, que actúan sensibilizando a la irradiación los progenitores del meduloblastoma más próximos al nicho vascular⁷⁷. La figura 5 muestra algunas estrategias dirigidas contra los precursores celulares de los tumores cerebrales.

El efecto del ácido retinoico sobre las células CD133⁺ parece estar relacionado con la represión de la vía Wnt/b-catenina que detiene la proliferación que se acompaña de la sobreexpresión de la Axina⁷⁸. La misma estrategia se utilizó en un modelo preclínico para probar la utilidad de la combinación del ácido 13-cis-retinoico más el vorinostat (SAHA) en cultivos celulares de meduloblastoma. El ácido retinoico actúa a través de la activación transcripcional de la BMP-2, y el SAHA facilita la apoptosis controlando la cromatina, efectos que se traducen en el incremento de la sensibilidad al cisplatino y al etopósido⁷⁹. La proteína de choque térmico 90 (HSP90) opera como nodriza de la b-catenina durante su fase de maduración conformacional;

Figura 5. Estrategias dirigidas contra los precursores de los tumores cerebrales.



el inhibidor 17-alilamino-17-demetoxigeldanamicina (17-AAG) modifica el fenotipo de la HSP90 afectando la expresión aberrante de la b-catenina, lo cual facilita la inhibición (in vivo e in vitro) del crecimiento de varias líneas celulares de glioma y de sus progenitores CD133⁺, lo que se traduce en un aumento del efecto de la radiación en el GB, hallazgo que es más evidente durante la exposición a la TMZ⁸⁰.

Por el papel preponderante del Hh en el desarrollo de los progenitores neurales normales y tumorales, Bar y colaboradores exploraron la utilidad de la ciclopamina en una subpoblación de primordios celulares de GB⁸¹. En este estudio, el 26% de las muestras demostraron sobreexpresión de Gli1, un blanco clave de esta vía, que fue inhibido satisfactoriamente en el 60% de los casos, lo que ocasionó una disminución significativa en el crecimiento de los progenitores CD133⁺. En paralelo, la administración de ciclopamina sobre las neuroferas inhibió la generación de nuevas colonias, sugiriendo la regresión de la capacidad clonogénica de los progenitores en los gliomas. En el 2009, Rudin y colaboradores informaron sobre la utilidad del vismodegib (GDC-0449) en un paciente de 26 años con meduloblastoma refractario a múltiples intervenciones, debido a la activación aberrante del Hh mediada por la pérdida de heterocigidad y la mutación del gen PTCH1 (*encoding patched homologue 1*), un regulador negativo clave en su vía de señalización⁸². Posteriormente, el mismo grupo identificó el patrón de resistencia al vismodegib relacionado con la sustitución de un aminoácido en un residuo de ácido aspártico conservado del receptor serpentine Smoothened (SMO), lugar de unión del medicamento que no afecta la transmisión de señales de Hh pero interrumpe su capacidad de unión⁸³. Desde entonces, se han desarrollado varios estudios que han confirmado la eficacia, seguridad y el patrón de resistencia al vismodegib en pacientes con meduloblastoma (NCT01601184, NCT01239316, NCT00939484, NCT00822458)⁸⁴.

Beier y colaboradores demostraron que la TMZ es incapaz de inducir la muerte de las células CD133⁺, pero inhibe eficazmente la proliferación reduciendo su metabolismo in vitro en un 72% después de siete días de incubación⁷¹. Dependiendo del subtipo celular, la TMZ indujo arresto en la transición de G_{2-M} o detención del ciclo celular en G₂. Sin embargo, en todos los cultivos, las células en pico sub-G₀, que indican la tasa

de apoptosis, fueron inferior al 8%. De forma similar, el mismo estudio demostró que el patrón de presentación del promotor del gen MGMT no difirió entre las células CD133⁺ y las CD133⁻, pero la expresión de la proteína MGMT fue mayor entre las células negativas, lo que no permite explicar la susceptibilidad de los progenitores al alquilante⁷¹.

Los progenitores gliales y su progenie conservan un mecanismo de diferenciación homogéneo promovido por la BMP y sus ligandos, que suelen reducir la cantidad de células CD133⁺ favoreciendo el aumento de la astrogliosis y de los elementos celulares similares a las neuronas⁸⁵. Piccirillo y colaboradores encontraron en algunos modelos in vivo que el estímulo terapéutico de las diversas isoformas de la BMP retarda el crecimiento tumoral y el potencial de invasión vascular del GB⁷³; sin embargo, su utilización en seres humanos podría resultar en un efecto paradójico⁸⁶.

Como se comentó previamente, el uso de bevacizumab atenúa la capacidad de los progenitores tumorales para promover la angiogénesis, no solo a través de la regulación de la acidosis y la hipoxia, sino también por la activación de oncogenes, como el PTEN y el EGFR⁴⁹. El cediranib, un pan-inhibidor del receptor VEGF, normaliza los vasos sanguíneos del tumor en pacientes con GB recurrente, aliviando el edema perilesional y reduciendo la capacidad de reproducción de los progenitores CD133⁺ y de las células precursoras del endotelio⁵⁰. Por otra parte, el cilengitide reduce la expresión de la integrina $\alpha v \beta 3$ en el microambiente tumoral, disminuyendo la capacidad migratoria y proliferativa de los precursores hasta en un 60%, efecto que parece ser dependiente de las dosis y de la coexpresión de otros antígenos de superficie en las células endoteliales (CD144 y factor de von Willebrand)⁷⁶.

Últimos hallazgos

Recientemente, Chen y colaboradores ratificaron que se necesita un pequeño número de células pluripotenciales de estirpe glial implantadas en un murino para desarrollar un tumor⁸⁷. Empleando ratones que albergan alelos condicionales para los genes supresores de tumores NF1, p53 y PTEN, que desarrollan espontáneamente gliomas con una penetrancia del 100%, se generó un transgénico que alberga un cassette que contiene una versión modificada del herpes

simple con expresión de timidina quinasa, evento que permite temporalmente la regulación de la división de los progenitores neurales por vía sistémica utilizando ganciclovir. El estudio demostró que la exposición crónica al antiviral bloquea la neurogénesis abatiendo las células quiescentes al momento de entrar al ciclo celular. Curiosamente, las neoplasias ricas en células pluripotenciales demostraron una elevada proporción de células mitóticamente activas (elevación del KI_{67}) sin reactividad para la GFAP. Esto indica que la mayoría de los GB son ricos en células latentes capaces de regenerarse y evolucionar después de la exposición a la radioterapia más los agentes alquilantes; con el tiempo, luego del tratamiento, la población de células ricas en GFAP dan lugar a elementos que pierden progresivamente la pluripotencialidad, es decir, la expresión de nestina y la latencia relativa. En adición, los autores encontraron en los modelos endógenos de glioma que la temozolamida afecta parcialmente los derivados celulares en proliferación activa, pero no el segmento de células quiescentes positivas para la GFAP. Una hipótesis derivada de este evento podría hacer que la erradicación constitutiva de las células madre permitiera controlar el surgimiento de nuevos

tumores, intervención dominada por la exposición continua al ganciclovir⁸⁸.

La controversia sigue abierta, en especial, cuando muchas de las plataformas in vivo de orden animal no son reproducibles en la práctica clínica regular. Hace 12 años, Rainov reportó los resultados de un experimento clínico fase III que incluyó el uso de la timidina quinasa del virus herpes tipo I más ganciclovir como terapia farmacogenómica adyuvante a la resección quirúrgica más radioterapia en pacientes con glioblastoma de novo²⁸. Tras la inclusión de 248 sujetos, la supervivencia libre de progresión (SLP) en el grupo de intervención fue de 180 días en comparación con 183 para quienes solo recibieron la teleterapia (control). De forma similar, la mediana de supervivencia global (SG) fue 365 días contra 354 días para los mismos brazos, y la tasa de supervivientes a 12 meses fue del 50% y 55%, respectivamente. Todas las diferencias no fueron significativas, en especial, por la baja penetración de la timidina quinasa viral en las células tumorales. Además, el modo de inyección manual de los vectores de las células con un fenotipo similar al de los fibroblastos no migratorios limitó la distribución de la intervención en el tumor⁸⁹.

Referencias

1. CBTRUS 2000-2004 data. United States population estimates by 5-year age group were obtained from United States census; estimates available at <www.census.gov>.
2. Ries LA, Melbert D, Krapcho M, Mariotto A, Miller BA, Feuer EJ, et al., editors. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2004, National Cancer Institute, Bethesda, MD, in <http://seer.cancer.gov/csr/1975_2004/>, based on November 2006 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2008.
3. Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. Globocan 2002: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide, Version 2.0. IARC Cancer Base N° 5. Lyon, IARC Press, 2004. Limited version available from: URL: <http://www.depdb.iarc.fr/globocan2002.htm>.
4. Stupp R, Roila F; ESMO Guidelines Working Group. Malignant glioma: ESMO clinical recommendations for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2008;19 Suppl 2:ii83-5.
5. Gilbert MR. Designing clinical trials for brain tumors: the next generation. *Curr Oncol Rep*. 2007;9(1):49-54.
6. Buckner JC. Factors influencing survival in high grade gliomas. *Semin Oncol*. 2003;30(6 Suppl 19):10-4.
7. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005;352(10):987-96.
8. Wong ET, Hess KR, Gleason MJ, Jaeckle KA, Kyritsis AP, Prados MD, et al. Outcomes and prognostic factors in recurrent glioma patients enrolled onto phase II clinical trials. *J Clin Oncol*. 1999;17:2572-8.
9. Gilbertson RJ, Rich JN. Making a tumour's bed: glioblastoma stem cells and the vascular niche. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(10):733-6.
10. Nam DH, Park K, Suh YL, Kim JH. Expression of VEGF and brain specific angiogenesis inhibitor-1 in glioblastoma: prognostic significance. *Oncol Rep*. 2004;11(4):863-9.
11. Knizetova P, Darling JL, Bartek J. Vascular endothelial growth factor in astroglia stem cell biology and response to therapy. *J Cell Mol Med*. 2008;12(1):111-25.
12. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature*. 2001;414(6859):105-11.
13. Sell S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2004;51(1):1-28.
14. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nature Med*. 1997;3(7):730-7.
15. Lie DC, Song H, Colamarino SA, Ming GL, Gage FH. Neurogenesis in the adult brain: new strategies for central nervous system diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2004;44:399-421.

16. Ming GL, Song H. Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu Rev Neurosci.* 2005;28:223-50.
17. Doetsch F, Caillé I, Lim DA, García-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell.* 1999;97(6):703-16.
18. Morshead CM, Reynolds BA, Craig CG, McBurney MW, Staines WA, Morassutti D, et al. Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. *Neuron.* 1994;13(5):1071-82.
19. Sanai N, Tramontin AD, Quiñones-Hinojosa A, Barbaro NM, Gupta N, Kunwar S, et al. Unique astrocyte ribbon in adult human brain contains neural stem cells but lacks chain migration. *Nature.* 2004;427(6976):740-4.
20. Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain. *J Neurosci.* 1997;17(13):5046-61.
21. Zhenju J, Lenhard R. Telomeres and telomerase in cancer stem cell. *Eur J Cancer.* 2006;42:1197-1203.
22. Kania G, Corbeil D, Fuchs J, Tarasov KV, Blyszczuk P, Huttner WB, et al. Somatic stem cell marker prominin-1/CD133 is expressed in embryonic stem cell-derived progenitors. *Stem Cells.* 2005;23(6):791-804.
23. Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, et al. Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature.* 2004;432(7015):396-401.
24. Galli R, Binda E, Orfanelli U, Cipelletti B, Gritti A, De Vitis S, et al. Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma. *Cancer Res.* 2004;64(19):7011-21.
25. Bao S, Wu Q, McLendon RE, Hao Y, Shi Q, Hjelmeland AB, et al. Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response. *Nature.* 2006;444(7120):756-60.
26. Rich JN. Cancer stem cells in radiation resistance. *Cancer Res.* 2007;67(19):8980-4.
26. Galli R, Binda E, Orfanelli U, Cipelletti B, Gritti A, De Vitis S, et al. Isolation and characterization of tumorigenic, stem-like neural precursors from human glioblastoma. *Cancer Res.* 2004;64(19):7011-21.
27. Liu G, Yuan X, Zeng Z, Tunici P, Ng H, Abdulkadir IR, et al. Analysis of gene expression and chemoresistance of CD133+ cancer stem cells in glioblastoma. *Mol Cancer.* 2006;5:67-78.
28. Schimmer AD. Inhibitor of apoptosis proteins: translating basic knowledge into clinical practice. *Cancer Res.* 2004;64(20):7183-90.
29. Vescovi AL, Galli R, Reynolds BA. Brain tumour stem cells. *Nat Rev Cancer.* 2006;6(6):425-36.
30. Dell'Albani P. Stem cell markers in gliomas. *Neurochem Res.* 2008;33(12):2407-15.
31. Gu H, Wang S, Messam CA, Yao Z. Distribution of nestin immunoreactivity in the normal adult human forebrain. *Brain Res.* 2002;943(2):174-80.
32. Holmin S, Almqvist P, Lendahl U, Mathiesen T. Adult nestin-expressing subependymal cells differentiate to astrocytes in response to brain injury. *Eur J Neurosci.* 1997;9(1):65-75.
33. Dahlstrand J, Collins VP, Lendahl U. Expression of the class VI intermediate filament nestin in human central nervous system tumors. *Cancer Res.* 1992;52(19):5334-41.
34. Bachoo RM, Maher EA, Ligon KL, Sharpless NE, Chan SS, You MJ, et al. Epidermal growth factor receptor and Ink4a/Arf: convergent mechanisms governing terminal differentiation and transformation along the neural stem cell to astrocyte axis. *Cancer Cell.* 2002;1(3):269-77.
35. Erlandsson A, Enarsson M, Forsberg-Nilsson K. Immature neurons from CNS stem cells proliferate in response to platelet-derived growth factor. *J Neurosci.* 2001;21(10):3483-91.
36. Ligon KL, Huillard E, Mehta S, Kesari S, Liu H, Alberta JA, et al. Olig2-regulated lineage-restricted pathway controls replication competence in neural stem cells and malignant glioma. *Neuron.* 2007;53(4):503-17.
37. Hitoshi S, Seaberg RM, Kosciak C, Alexson T, Kusunoki S, Kanazawa I, et al. Primitive neural stem cells from the mammalian epiblast differentiate to definitive neural stem cells under the control of Notch signalling. *Genes Dev.* 2004;18(15):1806-11.
38. Tanigaki K, Nogaki F, Takahashi J, Tashiro K, Kurooka H, Honjo T. Notch1 and Notch3 instructively restrict bFGF-responsive multipotent neural progenitor cells to an astroglial fate. *Neuron.* 2001;29(1):45-55.
39. Zhang XP, Zheng G, Zou L, Liu HL, Hou LH, Zhou P. Notch activation promotes cell proliferation and the formation of neural stem cell-like colonies in human glioma cells. *Mol Cell Biochem.* 2008;307(1-2):101-8.
40. Purow BW, Haque RM, Noel MW, Su Q, Burdick MJ, Lee J, et al. Expression of Notch-1 and its ligands, Delta-like-1 and Jagged-1, is critical for glioma cell survival and proliferation. *Cancer Res.* 2005;65(6):2353-63.
41. Miele L. Notch signaling. *Clin Can Res.* 2006;12(4):1074-9.
42. Singh SK, Clarke ID, Terasaki M, Bonn VE, Hawkins C, Squire J, et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res.* 2003;63(18):5821-8.
43. Assanah M, Lochhead R, Ogdan A, Bruce J, Goldman J, Canoll P. Glial progenitors in adult white matter are driven to form malignant gliomas by platelet-derived growth factor-expressing retroviruses. *J Neurosci.* 2006;26(25):6781-90.
44. Visvader JE, Lindeman GJ. Cancer stem cells in solid tumours: accumulating evidence and unresolved questions. *Nat Rev Can.* 2008;8(10):755-68.
45. Garcion E, Halilagic A, Faissner A, French-Constant C. Generation of an environmental niche for neural stem cell development by the extracellular matrix molecule tenascin C. *Development.* 2004;131(14):3423-32.
46. Scadden DT. The stem-cell niche as an entity of action. *Nature.* 2006;441(7097):1075-9.
47. Calabrese C, Poppleton H, Kocak M, Hogg TL, Fuller C, Hamner B, et al. A perivascular niche for brain tumor stem cells. *Cancer Cell.* 2007;11(1):69-82.
48. Leon SP, Folkerth RD, Black PM. Microvessel density is a prognostic indicator for patients with astroglial brain tumors. *Cancer.* 1996;77(2):362-72.
49. Bao S, Wu Q, Sathornsumetee S, Hao Y, Li Z, Hjelmeland AB, et al. Stem cell-like glioma cells promote tumor angiogenesis through vascular endothelial growth factor. *Cancer Res.* 2006;66(16):7843-8.
50. Batchelor TT, Sorensen AG, di Tomaso E, Zhang WT, Duda DG, Cohen KS, et al. AZD2171, a pan-VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor, normalizes tumor vasculature and alleviates edema in glioblastoma patients. *Cancer Cell.* 2007;11(1):83-95.

51. Stupp R, Goldbrunner R, Neyns B, Schlegel U, Clement P, Grabenbauer GG, et al. Phase I/IIa trial of cilengitide (EMD121974) and temozolomide with concomitant radiotherapy, followed by temozolomide and cilengitide maintenance therapy in patients (pts) with newly diagnosed glioblastoma (GBM). *J Clin Oncol.* 2007;25(18S):2000.
52. Sotelo C. Cellular and genetic regulation of the development of the cerebellar system. *Prog Neurobiol.* 2004;72(5):295-339.
53. Fan X, Eberhart CG. Medulloblastoma Stem Cells. *J Clin Oncol.* 2008;26(17):2821-7.
54. Wang VY, Rose MF, Zoghbi HY. Math1 expression redefines the rhombic lip derivatives and reveals novel lineages within the brainstem and cerebellum. *Neuron.* 2005;48(1):31-43.
55. Lee Y, Miller HL, Jensen P, Hernan R, Connelly M, Wetmore C, et al. A molecular fingerprint for medulloblastoma. *Cancer Res.* 2003;63(17):5428-37.
56. Dahmane N, Sánchez P, Gitton Y, Palma V, Sun T, Beyna M, et al. The Sonic Hedgehog-Gli pathway regulates dorsal brain growth and tumorigenesis. *Development.* 2001;128(24):5201-12.
57. Yang ZJ, Ellis T, Markant SL, Read TA, Kessler JD, Bourboulas M, et al. The cellular origin of Patched associated medulloblastoma. *Neuro-Oncology.* 2007;9:559.
58. Sasai K, Romer JT, Kimura H, Eberhart DE, Rice DS, Curran T. Medulloblastomas derived from Cxcr6 mutant mice respond to treatment with a smoothed inhibitor. *Cancer Res.* 2007;67(8):3871-7.
59. Schüller U, Rowitch DH. Beta-catenin function is required for cerebellar morphogenesis. *Brain Res.* 2007;1140:161-9.
60. Koch A, Hrychuk A, Hartmann W, Waha A, Mikeska T, Waha A, et al. Mutations of the Wnt antagonist AXIN2 (Conductin) result in TCF-dependent transcription in medulloblastomas. *Int J Cancer.* 2007;121(2):284-91.
61. Clifford SC, Lusher ME, Lindsey JC, Langdon JA, Gilbertson RJ, Straughton D, 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):2666-70.
62. Dakubo GD, Mazerolle CJ, Wallace VA. Expression of Notch and Wnt pathway components and activation of Notch signaling in medulloblastomas from heterozygous patched mice. *J Neurooncol.* 2006;79(3):221-7.
63. Keith B, Simon MC. Hypoxia-inducible factors, stem cells, and cancer. *Cell.* 2007;129(3):465-72.
64. Wechsler-Reya R, Read TA. Medulloblastomas from patched mutant mice are propagated by a CD15(+)/CD133- neural progenitor. *Neuro-Oncology.* 2007;9:559.
65. Banna GL, Pallini R, Ricci-Vitiani L, Signore M, Lombardi D, Martini M, et al. High prognostic potential of glioblastoma stem cell analysis. *J Clin Oncol.* 2007;25(18S):10580.
66. Spira AI, Carducci MA. Differentiation therapy. *Curr Opin Pharmacol.* 2003;3(4):338-43.
67. Massard C, Deutsch E, Soria JC. Tumour stem cell-targeted treatment: elimination or differentiation. *Ann Oncol.* 2006;17(11):1620-4.
68. Sell S. Stem cell origin of cancer and differentiation therapy. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2004;51(1):1-28.
69. Clement V, Sanchez P, de Tribolet N, Radovanovic I, Ruiz i Altaba A. HEDGEHOG—GLI1 signaling regulates human glioma growth, cancer stem cell self-renewal, and tumorigenicity. *Curr Biol.* 2007;17(2):165-72.
70. Chearwae W, Bright JJ. PPARgamma agonists inhibit growth and expansion of CD133+ brain tumour stem cells. *Br J Cancer.* 2008;99(12):2044-53.
71. Beier D, Röhrl S, Pillai DR, Schwarz S, Kunz-Schughart LA, Leukel P, et al. Temozolomide preferentially depletes cancer stem cells in glioblastoma. *Cancer Res.* 2008;68(14):5706-15.
72. Guzman ML, Rossi RM, Karnischky L, Li X, Peterson DR, Howard DS, et al. The sesquiterpene lactone parthenolide induces apoptosis of human acute myelogenous leukemia stem and progenitor cells. *Blood.* 2005;105(11):4163-9.
73. Piccirillo SG, Reynolds BA, Zanetti N, Lamorte G, Binda E, Broggi G, et al. Bone morphogenetic proteins inhibit the tumorigenic potential of human brain tumour-initiating cells. *Nature.* 2006;444(7120):761-5.
74. Dresemann G, Hosius C, Lilienthal J, Schleyer E, Bogdan U, Weller M, et al. Treatment failure due to intracerebral stem cell-like behavior of glioblastoma (GBM) cells: A reason for targeted maintenance therapy with imatinib (I) and hydroxyurea (H)? An analysis of study DE21 and DE40 (Ambrosia). *J Clin Oncol.* 2008;26:2048.
75. Schatton T, Murphy GF, Frank NY, Yamaura K, Waaga-Gasser AM, Gasser M, et al. Identification of cells initiating human melanomas. *Nature.* 2008;451(7176):345-9.
76. Loges S, Butzal M, Otten J, Schweizer M, Fischer U, Bokemeyer C, et al. Cilengitide inhibits proliferation and differentiation of human endothelial progenitor cells in vitro. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;357(4):1016-20.
77. Hambardzumyan D, Becher OJ, Rosenblum MK, Pandolfi PP, Manova-Todorova K, Holland EC. PI3K pathway regulates survival of cancer stem cells residing in the perivascular niche following radiation in medulloblastoma in vivo. *Genes Dev.* 2008;22(4):436-48.
78. Lu J, Zhang F, Zhao D, Hong L, Min J, Zhang L, et al. ATRA-inhibited proliferation in glioma cells is associated with subcellular redistribution of beta-catenin via up-regulation of Axin. *J Neurooncol.* 2008;87(3):271-7.
79. Spiller SE, Ditzler SH, Pullar BJ, Olson JM. Response of preclinical medulloblastoma models to combination therapy with 13-cis retinoic acid and suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA). *J Neurooncol.* 2008;87(2):133-41.
80. Sauvageot CM, Weatherbee JL, Kesari S, Winters SE, Barnes J, Dellagatta J, et al. Efficacy of the HSP90 inhibitor 17-AAG in human glioma cell lines and tumorigenic glioma stem cells. *Neuro Oncol.* 2009;11(2):109-21.
81. Bar EE, Chaudhry A, Lin A, Fan X, Schreck K, Matsui W, et al. Cyclopamine-mediated hedgehog pathway inhibition depletes stem-like cancer cells in glioblastoma. *Stem Cells.* 2007;25(10):2524-33.
82. Rudin CM, Hann CL, Laterra J, Yauch RL, Callahan CA, Fu L, et al. Treatment of medulloblastoma with hedgehog pathway inhibitor GDC-0449. *N Engl J Med.* 2009;361(12):1173-8.
83. Yauch RL, Dijkgraaf GJ, Alicke B, Januario T, Ahn CP, Holcomb T, et al. Smoothed mutation confers resistance to a Hedgehog pathway inhibitor in medulloblastoma. *Science.* 2009;326(5952):572-4.
84. LoRusso PM, Rudin CM, Reddy JC, Tibes R, Weiss GJ, Borad MJ, et al. Phase I trial of hedgehog pathway inhibitor

- vismodegib (GDC-0449) in patients with refractory, locally advanced or metastatic solid tumors. *Clin Cancer Res.* 2011;17(8):2502-11.
- 85.** Li Z, Wang H, Eyster CE, Hjelmeland AB, Rich JN. Turning cancer stem cells inside out: an exploration of glioma stem cell signaling pathways. *J Biol Chem.* 2009;284(25):16705-9.
- 86.** Lee J, Son MJ, Woolard K, Donin NM, Li A, Cheng CH, et al. Epigenetic-mediated dysfunction of the bone morphogenetic protein pathway inhibits differentiation of glioblastoma-initiating cells. *Cancer Cell.* 2008;13(1):69-80.
- 87.** Chen J, McKay RM, Parada LF. Malignant glioma: lessons from genomics, mouse models, and stem cells. *Cell.* 2012;149(1):36-47.
- 88.** Chen J, Li Y, Yu TS, McKay RM, Burns DK, Kernie SG, Parada LF. A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy. *Nature.* 2012;488(7412):522-6.
- 89.** Rainov NG. A phase III clinical evaluation of herpes simplex virus type 1 thymidine kinase and ganciclovir gene therapy as an adjuvant to surgical resection and radiation in adults with previously untreated glioblastoma multiforme. *Hum Gene Ther.* 2000;11(17):2389-401.

The role of Notch, Hh and Wnt in lung cancer development

El papel de Notch, Hh y Wnt en el desarrollo del cáncer de pulmón

► Andrés Felipe Cardona¹, Noemí Reguart²

¹Clinical and Translational Oncology Group, Institute of Oncology, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

²Foundation for Clinical and Applied Cancer Research (FICMAC) (Bogotá, Colombia).

³Medical Oncology Service, Hospital Clinic (Barcelona, Spain).

Resumen

Hedgehog (Hh), Notch y *Wingless-Int*-(Wnt) son vías de señalización altamente conservadas entre las especies, esenciales para el desarrollo embrionario y para definir el destino de las células progenitoras. Todas participan en el desarrollo del pulmón, así como en diversos procesos relacionados con la reparación del epitelio en la vía aérea. La activación aberrante de estas vías se observa en una gran variedad de neoplasias, lo que sugiere que contribuyen en la evolución y el mantenimiento de un fenotipo maligno. Nueva evidencia implica la transformación maligna del linaje neuroendocrino con la activación anormal de la vía Hedgehog, mientras que la señalización de Notch y Wnt puede ser importantes en otros tipos de células tumorales derivadas de las vías respiratorias. Teniendo en cuenta la importancia de las teorías sobre la formación de tumores partir de células pluripotenciales en lugar del modelo estocástico de la carcinogénesis, no sorprende el creciente interés en estos genes que están directamente implicados en el proceso de renovación de las células troncales. En la actualidad, se están diseñando múltiples compuestos centrados en la reorientación de estas vías en el cáncer de pulmón. Esta revisión se concentra en el papel del Hh, Wnt y Notch en la tumorigénesis del cáncer de pulmón.

Palabras clave: cáncer de pulmón, Hedgehog (Hh), Notch, *Wingless-Int* (Wnt), células pluripotenciales, morfogénesis pulmonar, desarrollo.

Abstract

Hedgehog (Hh), Notch and *Wingless-Int* (Wnt) are signalling pathways highly conserved among species, essential for embryonic development and progenitor cell fates. All three of these pathways participate in lung development as well as airway epithelial repair process. But interestingly aberrant activation of these pathways is observed in a large variety of cancers, suggesting its potential contribution in the evolution and maintenance of a malignant phenotype. New evidence implicates malignant transformation of the neuroendocrine lineage with aberrant Hedgehog pathway activation, whereas Notch and Wnt signalling may be important in other airway cell types. Bearing in mind the importance of the new theory of tumor formation based on stem-cells rather than on the stochastic model of carcinogenesis, it is not surprising that there has been increasing interest in these genes directly implicated in the stem-cell renewal process. Currently drug design strategies are focus on targeting these signalling pathways and may provide therapeutic opportunities in lung cancer. This review focuses on Hh, Notch Wnt signalling pathways and gives more insight about its role in lung tumorigenesis.

Key words: lung cancer, Hedgehog (Hh), Notch, *Wingless-Int* (Wnt), stem cells, lung morphogenesis, development.

Introduction

Lung cancer represents the leading cause of cancer mortality worldwide¹. Over last decade there have been advances in the diagnostics, chemotherapy, surgery and identification of molecular patterns specific for each tumor subtype, however overall survival in lung cancer patients continues to be dismal. At present we have more data about tumorigenesis and how it is

determined by dysregulation of cellular functions that control the growth by affecting cell proliferation, apoptosis, invasion and angiogenesis. Consequently genetics are at the cutting age of research into lung cancer and more target therapies are being design according to tumor molecular profiles.

Sonic hedgehog (SHh), Notch and *Wingless-Int* (Wnt) are highly conserved signaling pathways that have been widely studied due to its crucial function

DATOS DE CONTACTO

Correspondence: Andrés Felipe Cardona, MD, MSc, PhD. Clinical and Translational Oncology Group, Institute of Oncology, Fundación Santa Fe de Bogotá (Colombia).

Phone: (+571) 603 0303, ext. 5227; e-mail: a_cardonaz@yahoo.com

Received: August 25, 2011. Approved: September 1, 2012.

Conflict of interest: the authors declare no conflicts of interest.

during embryogenesis and tissue regeneration. They are implicated in the maintenance of tissue homeostasis by regulating renewal of normal stem-cells as well as proliferation or differentiation of progenitor cells in epithelia of adults. The first evidence that implicates hedgehog (Hh), Notch and Wnt pathways in cancer emerged from studies showing the presence of mutations, mainly in colorectal cancer, that constitutively activated the transcriptional response and misregulates multiple growth-control functions²⁻⁴.

Hh, Notch and Wnt pathways are vital regulators of lung embryonic development and determine the fate of the cell⁵. Moreover in adults they are associated to lung inflammatory processes^{6,7}, and are activated after damage exposure by smoking⁸. Typically tumors associated to these embryonic signalling pathways arise from tissues such as skin, bone or colon, in which the pathways normally operate due to its fast-renewing cell rate as a result of the constant environmental exposure⁹. Unlike skin or colon, adult airway epithelium rarely proliferates unless injured and in adult lung it is rare to find them activated. Controversially, the murine embryonic lung molecular signature mediated by Hh, Notch and Wnt is overexpressed in human lung tumors whereas normal lung appears to later stage of mouse lung development. Furthermore, the most the aggressiveness of the lung carcinoma subtype the most the association with markers early expressed in the mouse lung development⁵. It is not then surprising that the hypothesis of the potential implication of Hh, Notch and Wnt in lung tumorigenesis is gradually gaining acceptance.

The idea that these embryonic molecular signatures could be associated with tumorigenesis came along with the cancer stem-cell hypothesis. Cancer stem-cells as well as the normal stem-cells are under the regulation of Hh, Notch and Wnt pathways, but in a tumour context their protumorigenic characteristics including high capacity of self-renewal, multipotent differentiation, drug resistance and long lifespan relative to other cells sustain that stem-cells may initiate cancer formation as well as tumor capacity of recurrence¹⁰. Unlike other tumors¹¹⁻¹³ no cancer stem-cells have been isolated in vivo in lung cancer to date, however, over-expression of surface markers such as adenosine triphosphate-binding cassette (ABC) transporters, markers that characterize stem/progenitor population, have been identified in the adult

conducting lung airway. Actually, they are called the bronchioalveolar stem-cells (BASCs)^{14,15}. Moreover, in vitro regulation of this BASC cell population is linked to the expression of tumor suppressor genes in lung cancer such as MAPK, PTEN and Hh among others¹⁶⁻¹⁸.

Wnt, Hh and Notch among others are signal pathways that contribute to the epithelial-mesenchymal transition (EMT) which is a key step during embryonic morphogenesis. However EMT is also crucial for tumor progression to a metastatic phenotype which is to say the tumor acquisition of properties such as invasiveness and neovascularization. EMT describes the differentiation switch between an immobile epithelial cell and a contractile and motile mesenchymal cell¹⁹. Wnt, Hedgehog, Notch regulate the complex protein network to establish the mesenchymal phenotype after disassembly of the main elements of epithelial architecture¹⁹, such as desmosomes, as well as tight, adherents and gap junctions. The EMT process gives tumor cells the ability to escape and interestingly putative cancer stem-cells resembled that of mesenchymal cells and rarely stick together.

Researchers are testing therapeutic agents that hit these embryonic molecular targets highlighted by the stem-cell studies, EMT implication and the growing evidence of its existence in tumorigenesis. But this is a high-risk approach because these genes participate in healthy process of tissue renewal and toxicity could be associated with its use. Non-steroidal anti-inflammatory drugs and PPAR γ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma) agonists, with the potential to inhibit the canonical Wnt signalling pathway, are candidate agents for chemoprevention²⁰. Small molecule inhibitors (cycloamine, CUR61414) as well as monoclonal antibodies are lead compounds targeted to Wnt and Hh cascades. At the moment, trials are ongoing to test the safety and effectiveness of these new compounds in different solid tumors.

Lung development

Lung development is a classic example of branching morphogenesis mediated by epithelial-mesenchymal interaction. The respiratory system arises from the ventral foregut endoderm and the process initiates with the differentiation of cells promoted by transcription factor genes such as Foxa1, Foxa2, Gata4 and Gata6,

which are expressed early in the primitive gut tube^{21,22}. Subsequent changes are related with local expression of several factors along the anteroposterior (AP) axis of the gut endoderm, but specially, by the homeodomain protein gene *Nkx2.1* (also known as thyroid transcription factor 1, TTF-1)²³. Although *Nkx2.1* is the earliest known marker of the presumptive respiratory region, *Nkx2.1*-null mutant mice do have lungs; nevertheless, these organs are highly abnormal and consist of two main bronchi, which give rise to cystic structures, lined by columnar cells with scattered cilia. Strikingly, marker analysis shows that the epithelium fails to express any of the surfactant-protein genes typically found in the normal distal lung²⁴.

The Glioma-associated oncogene homolog (*Gli*) and T-box (*Tbx*) transcription factors have been also implicated in the formation of the lung primordium. *Gli1*, *Gli2* and *Gli3* are transcriptional effectors of the Hh signaling pathway and *sprouty* (*Spry*) that are present in the foregut mesoderm and later in the lung mesenchyme^{24,25}. In *Gli2/Gli3* double-null mice, lung and tracheal primordium never form; other foregut derivatives develop, but are smaller than normal, and most embryos die²⁶. *Spry* genes encode a family of cysteine-rich proteins that interact with crucial elements of the receptor tyrosine kinase Rtk-Ras-Erk/Mapk cascade and interfere with the intensity or timing of Rtk signaling by ligands such as FGF and EGF²⁷, clearly directed by Hh²⁸. Bud formation can be also controlled by diffusible signals originating from epithelial cells of distal epithelium with highly expressed SHh. Data from lung organ culture and in vivo studies support the idea that SHh limiting lung bud outgrowth. By doing so, Hh would contribute to controlling lungs size and shape and in lungs from SHh-null mice, the epithelium develops as large cystic structures and branching morphogenesis is severely disrupted¹⁸.

The role of Wnt signaling in lung morphogenesis has also been debated. Several Wnt ligands, frizzled receptors and components of the Wnt canonical pathway, such as β -catenin, and Tcf/Lef transcription factors are present in the developing lung^{22,29}. Activation of Wnt signaling can be monitored by detection of nuclear translocated β -catenin, and by analysis of a Wnt responsive reporter mouse, in which lacZ is expressed where the β -catenin-Lef1/Tcf complex activates the transcription of Wnt targets³⁰. In the lung, β -catenin

is expressed throughout the entire lung epithelium, however, nuclear-localized β -catenin, Tcf/Lef transcripts and lacZ-TOPGAL expression are increased in the distal lung epithelium, the sites that are actively branching^{31,32}. Disruption of canonical Wnt signaling at these sites by targeted deletion of β -catenin prevents distal lung buds from forming and markedly interferes with morphogenesis³³.

Airway epithelial specification is far less understood, and studies have lagged behind other endodermally derived organs such as the intestine and pancreas. An early and clear divergence between neuroendocrine and non-neuroendocrine cells is mediated by the Notch pathway, analogous to inhibition in islet versus acinar cell development of the embryonic pancreas^{34,35}. During fetal lung development, Notch signaling appears to be essential for the lung to achieve its normal size. A marked reduction in Clara cells in the small and medium sized airways apparently accounts for much of this loss. An attractive hypothesis is that Notch signaling helps to maintain a pool of less differentiated, replication-competent airway epithelial cells and precursors³⁵.

Non-small cell lung cancer developmental signaling

Notch pathway

Notch family receptors play a critical role in maintain stem-cell viability in bone, brain, intestinal crypts and epithelium. Notch defines a cell interaction mechanism exchanging signals between neighbouring cells using 5 membrane-associated ligands (Jagged 1, Jagged 2, Delta-like/D111, D113, D114) and 4 transmembrane receptors (Notch 1 to 4). This interaction leads to cleavage of Notch receptors by metalloprotease and γ -secretase to induce the activation of transcriptional regulatory factors such as HES1, HES5, HES7, HEY1, HEY2 and HEYL, that ultimate the cell fate. Notch signalling is initiated when the extracellular domain of the receptor attaches ligands found on neighbouring cells. Thus Notch is a cell-contact depending pathway crucial to morphogenesis³⁶. Quantitative expression studies from the developing lung demonstrate a progressive increase in Notch1-4, D111, and Jagged 1 mRNAs from early embryo to adulthood³⁷. RNA in situ hybridization and

immunohistochemistry studies suggest that Notch1 is expressed in the distal lung endoderm at least as early as after eleven weeks of pregnancy and persist through fetal development³⁸.

The effects of Notch are context dependent and inhibition of Notch signals is likely to have multitude of effects in different cell types³⁹. Accumulated preclinical data in several tumors supports Notch as a pro-oncogene resulting in tumor growth and differentiation⁴⁰⁻⁴². However, in some cells such as epidermal keratinocytes it can work as a tumor suppressor^{43,44}. To enhance the complexity of Notch network it is worth it to say that different Notch receptors may have opposite effects¹⁻⁴.

Although data regarding the role of the Notch pathway in human lung cancer are still limited, fetal lung developmental studies suggest that Notch plays a critical role in regulating airway epithelial development⁴⁵. Interestingly hypoxia, which is associated to smoke habit, dramatically elevates Notch-1 in lung tumor cell lines and sensitizes them to inhibition⁴⁶ strengthen the role of Notch in lung cancer. The high expression levels of Notch in some tumors such as lung carcinoma and mesothelioma sustain its role as an oncogene. However, its absence in other tumors such as carcinoid tumours indicates that the role of Notch signalling is dependent on its cellular context (reviewed in neuroendocrine and small cell carcinoma of the lung).

Elevated Notch receptors, Jagged1 and transcriptional target genes (HES1, HEY1) have been described in non-small cell lung cancer (NSCLC) and mesothelioma cell lines as well as in frozen tumor samples^{47,48}. The blockade of Notch-3 using gamma-secretase inhibits lung tumor growth both in vitro and in vivo using mouse xenograft models⁴⁷. In addition, Notch-3 overexpression in NSCLC cell lines has been associated with a specific somatic acquired chromosomal translocation at 19p^{15,19,48}. Somatic mutations or chromosomal deletions are normally associated to tumor suppressor genes or dominant oncogenes. Unlike hematologic malignancies, these mutations are not frequently found in epithelial lung tumor malignancies. The evidence of this genetic abnormality in aggressive metastatic lung carcinoma and its association with Notch-3 expression gives more insight about the importance of Notch family members in lung tumorigenesis.

Notch signalling has important cross talk interactions with other pathways. Ras signalling, which is well

known to be deregulated in NSCLC, activates Notch signaling and wild-type Notch-1 is necessary to maintain the neoplastic phenotype in human Ras-transformed cells⁴⁹. However, the expression of Notch-1 receptors in human lung adenocarcinoma cell lines inhibited cell growth through induction of cell cycle arrest suggesting that Notch signalling may function as a tumor suppressor in human lung adenocarcinoma⁵⁰. In addition, Notch has an essential role in vascular differentiation and homeostasis in normal adults by repressing endothelial cell proliferation in normal tissue⁵¹. Two Notch ligands, Dll 4 and Jagged 1, are overexpressed in endothelial tumor cells and they have been implicated in tumor angiogenesis⁵². Notch ligand Dll 4 expression is correlated with VEGF levels⁵³ and its inhibition induce a chaotic overgrowth of the tumor vasculature affecting the efficient delivery of blood therefore affecting tumor growth⁵⁴. In NSCLC, angiogenesis is a target for therapeutic intervention and molecular antibodies have been validated as standard treatment of advanced disease associated to chemotherapy, consequently Notch ligands inhibition could represent an alternative to VEGF inhibitors in NSCLC treatment.

Notch signalling is also crucial for the EMT, which is associated with increased cell motility, and invasiveness^{55,56}. In NSCLC, EMT has been associated to sensitivity to epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitors. Erlotinib is a tyrosine kinase inhibitor that has been approved for second line treatment in advanced NSCLC; its sensitivity in NSCLC patients is well known to be associated to mutations at EGFR, mainly at exon 19 and exon 21⁵⁷. Interestingly, in vitro sensitive NSCLC cell lines express epithelial markers such as E-cadherin (ECAD) whereas non-sensitive ones express mesenchymal markers such as vimentine or fibronectine. In a subanalysis of the Tribute trial, patients with ECAD positive tumors had better outcome when treated with chemotherapy in combination with Erlotinib. Therefore, a mesenchymal phenotype lacking cell polarity defined loss of cell sensitivity to EGFR tyrosine-kinase inhibitors (TKIs)⁵⁸. Preliminary data indicates that inhibiting Notch by using γ -secretase inhibitor MRK003 reduces tumor growth in vivo and enhance tumor sensitivity to TKI⁵⁸. Consequently, the development of new molecules targeting Notch could be a new strategy to overcome the resistance to TKIs associated to epithelial-to-mesenchymal transition.

Hedgehog

The Hedgehog (Hh) family of secreted proteins which includes Sonic (SHh), Indian (Ihh) and Desert (Dhh), play an important role in mammalian development morphogenesis and the regulation of stem-cell fates⁵⁹. After binding to tumor-suppressor Patched (Ptc) receptor signalling is activated through proto-oncogene Smoothed (Smo) derepression⁶⁰ which ultimately activates the Gli family of transcription factors (Gli 1-3)⁵⁹. Hh pathway mediates epithelial-mesenchymal interactions during lung development by signalling to adjacent lung mesenchyma as indicated by expression of the Hh receptor and Ptc^{28,61}. In addition, loss of the Hh protein function results in severe lung defects associated with failure of branching morphogenesis¹⁸. Deregulation of Hh pathway has been described in various human cancers, including medulloblastomas, pancreas, prostate and also small cell lung cancer (SCLC)⁶²⁻⁶⁶, and it has been estimated that 25% of human tumors require Hh signalling to keep their viability^{67,68}.

The involvement of Hh in lung malignancies has been widely described in SCLC⁶⁶. Whereas SCLC is dependent on activation of Hedgehog signaling (reviewed afterwards), its role in NSCLC is less clarified. However in adult, constitutive Hh signalling seems to be restricted to small number of cells at the basal layer of the bronchial epithelium at low levels⁶⁶. The normally quiescent airway epithelial compartment uses the Hh pathway to repopulate itself when challenged by injury such as the induced by cigarette smoke⁸. There is an extensive activation of the Hh pathway within the airway epithelium during repair of acute airway injury and immediately precedes neuroendocrine differentiation which is considered a potential progenitor of epithelial regeneration⁶⁹.

Chronic smoke exposure induces phenotypic changes characteristic of tumor cells by transformation of human primary bronchial epithelial cells. Treatment with inhibitors of the Wnt and Hh pathways can modulate growth tumor arising from smoke-transformed bronchial epithelial cells in mice⁸. However the cigarette smoke activation of this pathway is not sufficient to induce full malignant transformation of lung cells and other smoke-induced genotypic changes are also required to trigger such malignant transformation. Some subset of NSCLC cell lines require constitutive activation of Hh pathway^{66,70,71}. Nevertheless, the frequency of

Hh activation in NSCLC varies among reports; among those NSCLC cell lines that require Hh activity some could be insensitive to Hh inhibition as a consequence of overexpression of the downstream transcription factor Gli⁷¹. Therefore its role in NSCLC remains uncertain.

Wnt

The Wnt signalling pathway was first described for its role in a range of embryonic events. It was afterwards when it was first described its involvement in cancer by the identification of Wnt-1 as Int-1, a proto-oncogene in mammary tumors activated by integration of the mouse mammary tumor virus (MTV)⁷². Wnt signalling is compound by extracellular ligand Wnts and a group of membrane members which includes the low-density lipoprotein receptor-related protein (LRP) and Frizzled (Fz). In the absence of ligands (Off position), β -catenin is degraded via proteasoma by a cytoplasmatic destruction complex set up by the *adenomatous poliposis coli* (APC), Axin and the glycogen synthase kinase (GSK)-3 β . When ligands bind to transmembrane receptors (On position), the destruction complex is disrupted by Dishevelled, a cytoplasmatic protein, stabilizing cytoplasmatic β -catenin levels which finally activate multiple nuclear transcription factors that end up with cellular growth⁹.

Along with Hh and Notch, Wnt plays crucial roles in lung morphogenesis. Knockout mice studies demonstrated the importance of Wnts in lung development⁷³⁻⁷⁵. Moreover Wnt/ β -catenin pathway is also activated in lung inflammatory processes⁷⁶.

Recently atypical adenomatous hyperplasia (AAH), a precursor lesion of lung adenocarcinoma, has been associated at early stages with Wnt antagonist silencing by promoter hypermethylation⁷ and along with Hh, Wnt pathway mediates smoke-induced tumorigenesis in lung⁸.

Several mutations at the APC or Axin have been described in some solid tumors supporting an oncogene aberrant activation addiction⁷⁷⁻⁸¹. However in other tumors, such as NSCLC, Wnt activation may not be associated to constitutive mutations but a disbalanced activation of Wnt components by over or under-expression⁸²⁻⁸⁶. Nowadays several data supports an aberrant activation of Wnt signalling in lung tumorigenesis.

Several Wnt ligands, proteins that signal via interaction with Fz membrane receptor, are overexpress in

NSCLC and mesothelioma cell lines and tissue samples and its inhibition using siRNA or specific monoclonal antibody induces apoptosis^{82,83,87}. Some reports have associated overexpression of this ligands with tumor proliferation and poor prognosis in NSCLC patients⁸⁸. Whereas some Wnts (Wnt 1-2) are upregulated others like Wnt-7 are downregulated in cell lines as tumor samples. Moreover, this down-regulation comes along with E-cadherin loss which is associated with tumor de-differentiation, invasion, and metastasis⁸⁹.

Dishevelled (Dvl) proteins, cytoplasmatic mediators of Wnt signalling, are overexpressed in NSCLC and mesothelioma tissue samples compared to matched normal tissues^{90,91}. In addition, inhibition of these proteins induces growth arrest dependent on Tcf-transcription. Recently the expression levels of all three Dvl proteins was screened for a panel of 113 NSCLC and found to be overexpressed in 53% of the samples while no expression was found in normal adult bronchial and alveolar epithelia. Interestingly Dvl expression was significantly higher in adenocarcinomas than in squamous carcinomas and was associated with poor tumor differentiation⁹². Unlike other tumors mutations at β -catenin or APC are uncommon in NSCLC^{93,94}. Conversely some reports associate increased expression of β -catenin with a high proliferative index and worse prognosis⁹⁵. It is interesting to point out that there is a positive correlation between activated EGFR mutations and nuclear accumulation of β -catenin⁹⁶. Based on previous reports, the role of β -catenin in NSCLC by itself seems to be less significant than in other tumors such as colorectal carcinoma.

The family of Wnt antagonists includes the sFRP family, Wnt inhibitory factor (WIF)-1, Cerberus and the Dickkopf (Dkk) family. They are secreted proteins that modulated Wnt activity by binding to Wnt molecules (sFRP, WIF-1, Cerberus) or by direct binding to the receptor LRP (Dkk). They have been widely studied in NSCLC and several reports sustain its involvement in lung cancer pathogenesis. WIF-1 expression is down-regulated by promoter hypermethylation in NSCLC as well as mesothelioma tumor samples^{84,97}. Furthermore restoration of Wnt inhibitory factor function by transfection of an expression vector containing the Wnt inhibitory factor gene inhibits lung cancer cell

growth both in vitro and in vivo⁹⁵. Expression of secreted frizzled-related proteins, another endogenous modulator of Wnt signaling, is also silenced in NSCLC and mesothelioma primary tissues and cell lines⁹⁸ and it is found to be hypermethylated in 80% of the mesothelioma tissue samples. Dkk secreted proteins as well as their counterparts are downregulated many cell lines including lung carcinoma⁹⁹. Therefore epigenetic changes in the Wnt family of antagonists seem to be a crucial mechanism in thoracic malignances. Taken together, the results show an upstream activation of several Wnt proteins in NSCLC and uphold an important spring of potential targets to develop new therapeutic agents in lung cancer treatment.

Neuroendocrine and small cell lung carcinomas developmental signaling

As we mentioned, the complexity of Notch signaling at both the receptor and ligand levels represents a big challenge toward understanding the role of these protein interactions in normal lung and SCLC development. Quantitative expression studies from the developing lung demonstrate a progressive increase in Notch1-4, Dll1, and Jagged1 mRNAs from early embryo to adulthood³⁷. RNA in situ hybridization and immunohistochemistry studies suggest that Notch1 is expressed in the distal lung endoderm at least as early as eleven week of pregnancy and persists through fetal development³⁸. None of the four Notch receptors are known to be expressed in neuroendocrine cells, but specific expression patterns for the Notch ligands can be observed in the mesenchymal and neuroendocrine compartments¹⁰⁰. Jag1 expression can be observed in lung mesenchyme, and prominently in lung vessels of SCLC, but its significance are unknown³⁸.

Mammalian bombesin-like peptide (BLP) was identified as the first neuropeptide localized to pulmonary neuroendocrine cells¹⁰¹; cells containing BLP immunoreactivity are present at high numbers in human newborn and fetal lung, and appears to be indirectly linked with Notch1 expression via tumor necrosis factor- α (TNF)¹⁰². Recently, Shan et al.¹⁰³ demonstrated that decreased Notch signaling be one mechanism contributing to the sustained increase in gene expression and the ultimate neuroendocrine

phenotypic induction; nevertheless, as there is no single master regulator of neuroendocrine cell differentiation the regulatory effect of Notch over SCLC development remains unclear.

Activated Notch1 and Notch2, but not Hes1 caused a potent G1 arrest in SCLC cells, accompanied by marked up regulation of p21waf1/cip1. As expected, these researchers also found abundance of p53¹⁰⁴. The known effect of Notch1 to up regulate p21 could not be solely responsible for the growth arrest however, as it was observed in an Rb mutant context (NCI-H209 cells) typifying the majority of SCLC. It is unclear whether lower levels of Notch signaling also would confer a growth arrest in SCLC¹⁰⁵. Until today, there is no preclinical evidence to explore Notch-based therapies as a complement to either conventional cytotoxic chemotherapy or other targeted pathway inhibition strategies in SCLC scenario.

Hedgehog

Recently, Watkins *et al.* observed a marked expression of both SHh ligand and Gli1 in neuroendocrine cells that are normally implicated in the regulation of airway epithelial regeneration⁶⁶. Furthermore, they found a high expression of Hh proteins and consecutive activation of the pathway in the primitive lung endoderm^{66,69,106}. To establish a possible SHh pathway activation in adult bronchial epithelium the same group used mice in which one copy of Ptch is replaced in-frame with the β -galactosidase (β -gal) gene by homologous recombination, however, they only found a small number of cells expressing the marker in the basal layer of the adult bronchial epithelium⁶⁶. This data validate the hypothesis of a neuroendocrine precursor within the airway epithelial compartment that responds to a SHh signal elaborated by neighboring airway epithelial cells¹⁰⁷. Previous findings were confirmed by analysis of seven human SCLC cell lines which expressed both Hh and Gli1 proteins with a linear correlation of Ptch messenger RNA expression⁶⁶. This concept was proved evaluating whether ligand driven Hh pathway activation promotes growth of SCLC; inhibition of SHh ligand activity in NCI-H249 and NCI-H1618 SCLC culture cells with the 5E1-SHh-N monoclonal antibody resulted in growth inhibition demonstrating that growth of SCLC cells *in vitro* is dependent on ligand-mediated activation of the Hh pathway¹⁰⁸. Another study investigating the

expression of Gli1 in SCLC tissue reported that 85% of SCLC express Gli1 and more than 60% have a medium to strong expression correlating with increased Hh signaling¹⁰⁹.

Treatment of NCI-H249 SCLC cells with cyclopamine (a molecule that blocks the oncogenic effect of mutations of Ptch and specifically inhibits the Hh pathway) resulted in significant cancer cell inhibition and repression of genes like BMP4, a morphogen and putative target of Hh expressed in lung epithelial embryogenesis¹¹⁰, and nestin, an intermediate filament characteristic of neural stem cells in medulloblastoma⁶². These changes in gene expression suggest that Hh contribute to maintain a progenitor cell in SCLC by paracrine stimuli of their surrounding environment.

Moreover, Lemjabbar-Alaoui *et al.* demonstrated that Hh activation occurs in cells repeatedly exposed to smoke for ≥ 7 days in immortalized BEAS2B cells (an SV40-immortalized bronchial epithelial cell line) and ≥ 2 days in primary normal human bronchial epithelial cells⁸. By far, almost all cellular activity of SHh signaling after tobacco smoke exposure are related with cyclin-D and cyclin-E, two proteins vital for the G1-to-S cell cycle transition in SCLC¹¹¹. Hh signaling activates the mitosis promoting factor by increasing the intranuclear availability of cyclin B^{112,113} and also opposes normal stimuli for epithelial cell cycle arrest (by inhibiting P21) and promotes tumor cell growth¹¹⁴. In association, SHh signaling inhibits the primary regulator of apoptosis, the p53 tumor suppressor gene¹¹⁵.

The availability of the Hh ligand for signaling is regulated by the expression of HIP on the cell surface of Hh responsive cells. Activation of the Hh pathway causes an increased expression of the HIP via a negative feedback mechanism, which means that HIP is the principal antagonist of Hh signaling. Experimental models studying HIP knockout mice confirmed augmented Hh signaling; in opposite it appear to be down-regulation of HIP in endothelial cells during angiogenesis¹¹⁶. These findings suggest a reduced HIP expression in tumors including SCLC. SHh was also shown to induce the expression of angiopoietins I and II and the family of VEGF signaling proteins from mesenchymal cells, highlighting the significance of tumor associated fibroblasts in combination with Hh signaling to mediate blood vessel formation¹¹⁷.

Wnt

The proneural basic-helix-loop-helix protein achaete-scute homologue 1 (ASH1) is expressed in a very limited spectrum of normal and cancerous cells in a lineage specific manner, including normal pulmonary neuroendocrine cells and lung cancer cells with neuroendocrine features. This protein was found to inactivate DKK1 and DKK3, negative regulators of Wnt/ β -catenin signaling, E-cadherin, and integrin β 1 through ASH1-mediated deacetylation and repressive trimethylation of lysine 27 (H3K27me3) of histone H3 in the promoter regions of DKK1 and E-cadherin¹¹⁸. This information change concept that Wnt affects only the evolution of NSCLC, because E-cadherin promotes cell-cell interactions and sequesters β -catenin in the cell membrane, whereas reduced E-cadherin expression has been postulated to play a role in cell migration and metastasis, as well as anchorage independence¹¹⁹. Now, we know why E-cadherin is silenced in including lung cancers with neuroendocrine features¹²⁰.

Pelosi et al. evaluate the expression of E-cadherin/ β -catenin in 210 neuroendocrine tumors, including 96 typical carcinoids, 35 atypical carcinoids, 49 large cell neuroendocrine carcinomas, and 30 small cell lung carcinomas finding a homogeneous β -catenin expression in all tumors and E-cadherin in most tumors, with the exception of 3% of SCLCs and 9% of atypical carcinoids¹²¹. Furthermore, a disarrayed E-cadherin distribution pattern was associated with the pathologic

lymph node classification and the number of involved lymph nodes. Multivariate analysis confirmed that a disarrayed E-cadherin or β -catenin pattern was an independent predictor of lymph node metastases in patients with carcinoid tumors. Another recent preclinical study support this data reporting clear suppression of ASH1 expression through ASH1-RNAi-induced G2-M cell cycle arrest and apoptotic cell death; the induction of apoptosis was associated with activation of caspases, implying that ASH1 may play a role in the inhibitory regulation of cell death. Although the molecular mechanisms of induction of cell cycle arrest and apoptosis by ASH1-RNAi remain to be elucidated, this findings imply a role for ASH1 in the regulation of cell proliferation and cell fate specifically in lung cancers with neuroendocrine features¹¹⁸.

Conclusions

Hedgehog Notch and Wnt may be the connection between a primitive embryonic state and the complex architecture of lung cancer. Although this could be seen as a simplistic conclusion, several reports associated these signaling pathways with lung malignances. However, we must keep in mind that the final objective is to translate this knowledge into clinical practice, which is to say, the development of target therapies to improve the outcome for lung cancer patients.

References

1. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin.* 2005;55(2):74-108.
2. Morin PJ, Sparks AB, Korinek V, Barker N, Clevers H, Vogelstein B, et al. Activation of β -catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in β -catenin or APC. *Science.* 1997;275(5307):1787-90.
3. Dahmen RP, Koch A, Denkhau D, Tonn JC, Sørensen N, Berthold F, et al. Deletions of AXIN1, a component of the WNT/wingless pathway, in sporadic medulloblastomas. *Cancer Res.* 2001;61(19):7039-43.
4. Korinek V, Barker N, Morin PJ, van Wichen D, de Weger R, Kinzler KW, et al. Constitutive transcriptional activation by a β -catenin-Tcf complex in APC-/- colon carcinoma. *Science.* 1997;275(5307):1784-7.
5. Liu H, Kho AT, Kohane IS, Sun Y. Predicting survival within the lung cancer histopathological hierarchy using a multi-scale genomic model of development. *PLoS Med.* 2006;3(7):e232.
6. Kitagawa H, Goto A, Niki T, Hironaka M, Nakajima J, Fukayama M. Lung adenocarcinoma associated with atypical adenomatous hyperplasia. A clinicopathological study with special reference to smoking and cancer multiplicity. *Pathol Int.* 2003;53(12):823-7.
7. Licchesi JD, Westra WH, Hooker CM, Machida EO, Baylin SB, Herman JG. Epigenetic alteration of Wnt pathway antagonists in progressive glandular neoplasia of the lung. *Carcinogenesis.* 2008;29(5):895-904.
8. Lemjabbar-Alaoui H, Dasari V, Sidhu SS, Mengistab A, Finkbeiner W, Gallup M, et al. Wnt and Hedgehog are critical mediators of cigarette smoke-induced lung cancer. *PLoS One.* 2006;1:e93.
9. Taipale J, Beachy PA. The Hedgehog and Wnt signalling pathways in cancer. *Nature.* 2001;411(6835):349-54.
10. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature.* 2001;414:105-111.

11. Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med*. 1997;3(7):730-7.
12. Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(7):3983-8.
13. Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res*. 2005;65(23):10946-51.
14. Kim CF, Jackson EL, Woolfenden AE, Lawrence S, Babar I, Vogel S, et al. Identification of bronchioalveolar stem cells in normal lung and lung cancer. *Cell*. 2005;121(6):823-35.
15. Ling TY, Kuo MD, Li CL, Yu AL, Huang YH, Wu TJ, et al. Identification of pulmonary Oct-4+ stem/progenitor cells and demonstration of their susceptibility to SARS coronavirus (SARS-CoV) infection in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2006;103(25):9530-5.
16. Ventura JJ, Tenbaum S, Perdiguero E, Huth M, Guerra C, Barbacid M, et al. p38alpha MAP kinase is essential in lung stem and progenitor cell proliferation and differentiation. *Nat Genet*. 2007;39(6):750-8.
17. Yanagi S, Kishimoto H, Kawahara K, Sasaki T, Sasaki M, Nishio M, et al. Pten controls lung morphogenesis, bronchioalveolar stem cells, and onset of lung adenocarcinomas in mice. *J Clin Invest*. 2007;117(10):2929-40.
18. Pepicelli CV, Lewis PM, McMahon AP. Sonic hedgehog regulates branching morphogenesis in the mammalian lung. *Curr Biol*. 1998;8(19):1083-6.
19. Moustakas A, Heldin CH. Signaling networks guiding epithelial-mesenchymal transitions during embryogenesis and cancer progression. *Cancer Sci*. 2007;98(10):1512-20.
20. Winn RA, Van Scoyk M, Hammond M, Rodriguez K, Crossno JT Jr, Heasley LE, et al. Antitumorigenic effect of Wnt 7a and Fzd 9 in non-small cell lung cancer cells is mediated through ERK-5-dependent activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *J Biol Chem*. 2006;281(37):26943-50.
21. Kuo CT, Morrisey EE, Anandappa R, Sigrist K, Lu MM, Parmacek MS, et al. GATA4 transcription factor is required for ventral morphogenesis and heart tube formation. *Genes Dev*. 1997;11(8):1048-60.
22. Lako M, Strachan T, Bullen P, Wilson DI, Robson SC, Lindsay S. Isolation, characterisation and embryonic expression of WNT11, a gene which maps to 11q13.5 and has possible roles in the development of skeleton, kidney and lung. *Gene*. 1998;219(1-2):101-10.
23. Kimura S, Hara Y, Pineau T, Fernandez-Salguero P, Fox CH, Ward JM, et al. The T/ebp null mouse: thyroid-specific enhancer-binding protein is essential for the organogenesis of the thyroid, lung, ventral forebrain, and pituitary. *Genes Dev*. 1996;10(1):60-9.
24. Hui CC, Slusarski D, Platt KA, Holmgren R, Joyner AL. Expression of three mouse homologs of the *Drosophila* segment polarity gene *cubitus interruptus*, *Gli*, *Gli-2*, and *Gli-3*, in ectoderm- and mesoderm-derived tissues suggests multiple roles during postimplantation development. *Dev Biol*. 1994;162(2):402-13.
25. Motoyama J, Liu J, Mo R, Ding Q, Post M, Hui CC. Essential function of *Gli2* and *Gli3* in the formation of lung, trachea and oesophagus. *Nat Genet*. 1998;20(1):54-7.
26. Chapman DL, Garvey N, Hancock S, Alexiou M, Agulnik SI, Gibson-Brown JJ, et al. Expression of the T-box family genes, *Tbx1-Tbx5*, during early mouse development. *Dev Dyn*. 1996;206(4):379-90.
27. Kim HJ, Bar-Sagi D. Modulation of signalling by Sprouty: a developing story. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004;5(6):441-50.
28. Bellusci S, Furuta Y, Rush MG, Henderson R, Winnier G, Hogan BL. Involvement of Sonic hedgehog (Shh) in mouse embryonic lung growth and morphogenesis. *Development*. 1997;124(1):53-63.
29. Zakin LD, Mazan S, Maury M, Martin N, Guénet JL, Brûlet P. Structure and expression of *Wnt13*, a novel mouse *Wnt2* related gene. *Mech Dev*. 1998;73(1):107-16.
30. Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways. *Science*. 2004;303(5663):1483-7.
31. Okubo T, Hogan BL. Hyperactive Wnt signaling changes the developmental potential of embryonic lung endoderm. *J Biol*. 2004;3(3):11.
32. Dean CH, Miller LA, Smith AN, Dufort D, Lang RA, Niswander LA. Canonical Wnt signaling negatively regulates branching morphogenesis of the lung and lacrimal gland. *Dev Biol*. 2005;286(1):270-86.
33. De Langhe SP, Sala FG, Del Moral PM, Fairbanks TJ, Yamada KM, Warburton D, et al. Dickkopf-1 (DKK1) reveals that fibronectin is a major target of Wnt signaling in branching morphogenesis of the mouse embryonic lung. *Dev Biol*. 2005;277(2):316-31.
34. Esni F, Ghosh B, Biankin AV, Lin JW, Albert MA, Yu X, et al. Notch inhibits *Ptf1* function and acinar cell differentiation in developing mouse and zebrafish pancreas. *Development*. 2004;131(17):4213-24.
35. Hald J, Hjorth JP, German MS, Madsen OD, Serup P, Jensen J. Activated Notch1 prevents differentiation of pancreatic acinar cells and attenuate endocrine development. *Dev Biol*. 2003;260(2):426-37.
36. Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science*. 1999;284(5415):770-6.
37. Itoh K, Antipova A, Ratcliffe MJ, Sokol S. Interaction of dishevelled and *Xenopus* axin-related protein is required for wnt signal transduction. *Mol Cell Biol*. 2000;20(6):2228-38.
38. Post LC, Ternet M, Hogan BL. Notch/Delta expression in the developing mouse lung. *Mech Dev*. 2000 Nov;98(1-2):95-8.
39. Rizzo P, Osipo C, Foreman K, Golde T, Osborne B, Miele L. Rational targeting of Notch signaling in cancer. *Oncogene*. 2008;27(38):5124-31.
40. Roy M, Pear WS, Aster JC. The multifaceted role of Notch in cancer. *Curr Opin Genet Dev*. 2007;17(1):52-9.
41. Reedijk M, Odorcic S, Chang L, Zhang H, Miller N, McCready DR, et al. High-level coexpression of JAG1 and NOTCH1 is observed in human breast cancer and is associated with poor overall survival. *Cancer Res*. 2005;65(18):8530-7.
42. Pinnix CC, Herlyn M. The many faces of Notch signaling in skin-derived cells. *Pigment Cell Res*. 2007;20(6):458-65.
43. Nicolas M, Wolfer A, Raj K, Kummer JA, Mill P, van Noort M, et al. Notch1 functions as a tumor suppressor in mouse skin. *Nat Genet*. 2003;33(3):416-21.
44. Koch U, Radtke F. Notch and cancer: a double-edged sword. *Cell Mol Life Sci*. 2007;64(21):2746-62.
45. Tsao PN, Chen F, Izvolsky KI, Walker J, Kukuruzinska MA, Lu J, et al. Gamma-secretase activation of notch signaling regulates

- the balance of proximal and distal fates in progenitor cells of the developing lung. *J Biol Chem.* 2008;283(43):29532-44.
46. Chen Y, De Marco MA, Graziani I, Gazdar AF, Strack PR, Miele L, et al. Oxygen concentration determines the biological effects of NOTCH-1 signaling in adenocarcinoma of the lung. *Cancer Res.* 2007;67(17):7954-9.
 47. Konishi J, Kawaguchi KS, Vo H, Haruki N, Gonzalez A, Carbone DP, et al. Gamma-secretase inhibitor prevents Notch3 activation and reduces proliferation in human lung cancers. *Cancer Res.* 2007;67(17):8051-7.
 48. Dang TP, Gazdar AF, Virmani AK, Sepetavec T, Hande KR, Minna JD, et al. Chromosome 19 translocation, overexpression of Notch3, and human lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(16):1355-7.
 49. Weijzen S, Rizzo P, Braid M, Vaishnav R, Jonkheer SM, Zlobin A, et al. Activation of Notch-1 signaling maintains the neoplastic phenotype in human Ras-transformed cells. *Nat Med.* 2002;8(9):979-86.
 50. Zheng Q, Qin H, Zhang H, Li J, Hou L, Wang H, et al. Notch signaling inhibits growth of the human lung adenocarcinoma cell line A549. *Oncol Rep.* 2007;17(4):847-52.
 51. Dou GR, Wang YC, Hu XB, Hou LH, Wang CM, Xu JF, et al. RBP-J, the transcription factor downstream of Notch receptors, is essential for the maintenance of vascular homeostasis in adult mice. *FASEB J.* 2008;22(5):1606-17.
 52. Mailhos C, Modlich U, Lewis J, Harris A, Bicknell R, Ish-Horowicz D. Delta4, an endothelial specific notch ligand expressed at sites of physiological and tumor angiogenesis. *Differentiation.* 2001;69(2-3):135-44.
 53. Patel NS, Li JL, Generali D, Poulson R, Cranston DW, Harris AL. Up-regulation of delta-like 4 ligand in human tumor vasculature and the role of basal expression in endothelial cell function. *Cancer Res.* 2005;65(19):8690-7.
 54. Noguera-Troise I, Daly C, Papadopoulos NJ, Coetsee S, Bolland P, Gale NW, et al. Blockade of Dll4 inhibits tumour growth by promoting non-productive angiogenesis. *Nature.* 2006;444(7122):1032-7.
 55. Sahlgren C, Gustafsson MV, Jin S, Poellinger L, Lendahl U. Notch signaling mediates hypoxia-induced tumor cell migration and invasion. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008;105(17):6392-7.
 56. Timmerman LA, Grego-Bessa J, Raya A, Bertrán E, Pérez-Pomares JM, Díez J, et al. Notch promotes epithelial-mesenchymal transition during cardiac development and oncogenic transformation. *Genes Dev.* 2004;18(1):99-115.
 57. Pao W, Ladanyi M, Miller VA; Lung Cancer Oncogenome Group. Erlotinib in lung cancer. *N Engl J Med.* 2005;353(16):1739-41; author reply 1739-1741.
 58. Einhorn LH, Bonomi P, Bunn PA Jr, Camidge DR, Carbone DP, Choy H, et al. Summary report 7th Annual Targeted Therapies of the Treatment of Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2008;3(5):545-55.
 59. Ingham PW, McMahon AP. Hedgehog signaling in animal development: paradigms and principles. *Genes Dev.* 2001;15(23):3059-87.
 60. Ogden SK, Ascano M Jr, Stegman MA, Robbins DJ. Regulation of Hedgehog signaling: a complex story. *Biochem Pharmacol.* 2004;67(5):805-14.
 61. Pepinsky RB, Rayhorn P, Day ES, Dergay A, Williams KP, Galdes A, et al. Mapping sonic hedgehog-receptor interactions by steric interference. *J Biol Chem.* 2000;275(15):10995-1001.
 62. Berman DM, Karhadkar SS, Hallahan AR, Pritchard JJ, Eberhart CG, Watkins DN, et al. Medulloblastoma growth inhibition by hedgehog pathway blockade. *Science.* 2002;297(5586):1559-61.
 63. Thayer SP, di Magliano MP, Heiser PW, Nielsen CM, Roberts DJ, Lauwers GY, et al. Hedgehog is an early and late mediator of pancreatic cancer tumorigenesis. *Nature.* 2003;425(6960):851-6.
 64. Fan L, Pepicelli CV, Dibble CC, Catbagan W, Zarycki JL, Laciak R, et al. Hedgehog signaling promotes prostate xenograft tumor growth. *Endocrinology.* 2004;145(8):3961-70.
 65. Kubo M, Nakamura M, Tasaki A, Yamanaka N, Nakashima H, Nomura M, et al. Hedgehog signaling pathway is a new therapeutic target for patients with breast cancer. *Cancer Res.* 2004;64(17):6071-4.
 66. Watkins DN, Berman DM, Burkholder SG, Wang B, Beachy PA, Baylin SB. Hedgehog signalling within airway epithelial progenitors and in small-cell lung cancer. *Nature.* 2003;422(6929):313-7.
 67. Lum L, Beachy PA. The Hedgehog response network: sensors, switches, and routers. *Science.* 2004;304(5678):1755-9.
 68. Toftgard R. Hedgehog signalling in cancer. *Cell Mol Life Sci.* 2000;57(12):1720-31.
 69. Reynolds SD, Hong KU, Giangreco A, Mango GW, Guron C, Morimoto Y, et al. Conditional clara cell ablation reveals a self-renewing progenitor function of pulmonary neuroendocrine cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000;278(6):L1256-63.
 70. Fujita E, Khoroku Y, Urase K, Tsukahara T, Momoi MY, Kumagai H, et al. Involvement of Sonic hedgehog in the cell growth of LK-2 cells, human lung squamous carcinoma cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;238(2):658-64.
 71. Yuan Z, Goetz JA, Singh S, Ogden SK, Petty WJ, Black CC, et al. Frequent requirement of hedgehog signaling in non-small cell lung carcinoma. *Oncogene.* 2007;26(7):1046-55.
 72. Nusse R, Varmus HE. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell.* 1982;31(1):99-109.
 73. Yamaguchi TP, Bradley A, McMahon AP, Jones S. Wnt5a pathway underlies outgrowth of multiple structures in the vertebrate embryo. *Development.* 1999;126(6):1211-23.
 74. Weidenfeld J, Shu W, Zhang L, Millar SE, Morrissey EE. The WNT7b promoter is regulated by TTF-1, GATA6, and Foxa2 in lung epithelium. *J Biol Chem.* 2002;277(23):21061-70.
 75. Li C, Xiao J, Hormi K, Borok Z, Minoo P. Wnt5a participates in distal lung morphogenesis. *Dev Biol.* 2002;248(1):68-81.
 76. Chilosi M, Poletti V, Zamo A, Lestani M, Montagna L, Piccoli P, et al. Aberrant Wnt/beta-catenin pathway activation in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Pathol.* 2003;162(5):1495-502.
 77. Zeng X, Tamai K, Doble B, Li S, Huang H, Habas R, et al. A dual-kinase mechanism for Wnt co-receptor phosphorylation and activation. *Nature.* 2005;438(7069):873-7.
 78. Moreno-Bueno G, Hardisson D, Sánchez C, Sarrio D, Casia R, García-Rostán G, et al. Abnormalities of the APC/beta-catenin pathway in endometrial cancer. *Oncogene.* 2002;21(52):7981-90.
 79. Gerstein AV, Almeida TA, Zhao G, Chess E, Shih IeM, Buhler K, et al. APC/CTNNB1 (beta-catenin) pathway alterations in human prostate cancers. *Genes Chromosomes Cancer.* 2002;34(1):9-16.

80. Howe LR, Brown AM. Wnt signaling and breast cancer. *Cancer Biol Ther*. 2004;3(1):36-41.
81. de La Coste A, Romagnolo B, Billuart P, Renard CA, Buendia MA, Soubrane O, et al. Somatic mutations of the beta-catenin gene are frequent in mouse and human hepatocellular carcinomas. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95(15):8847-51.
82. He B, You L, Uematsu K, Xu Z, Lee AY, Matsangou M, et al. A monoclonal antibody against Wnt-1 induces apoptosis in human cancer cells. *Neoplasia*. 2004;6(1):7-14.
83. You L, He B, Xu Z, Uematsu K, Mazieres J, Mikami I, et al. Inhibition of Wnt-2-mediated signaling induces programmed cell death in non-small-cell lung cancer cells. *Oncogene*. 2004;23(36):6170-4.
84. Mazieres J, He B, You L, Xu Z, Lee AY, Mikami I, et al. Wnt inhibitory factor-1 is silenced by promoter hypermethylation in human lung cancer. *Cancer Res*. 2004;64(14):4717-20.
85. Kim J, You L, Xu Z, Kuchenbecker K, Raz D, He B, et al. Wnt inhibitory factor inhibits lung cancer cell growth. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2007;133(3):733-7.
86. Yue W, Sun Q, Dacic S, Landreneau RJ, Siegfried JM, Yu J, et al. Downregulation of Dkk3 activates beta-catenin/TCF-4 signaling in lung cancer. *Carcinogenesis*. 2008;29(1):84-92.
87. You L, He B, Uematsu K, Xu Z, Mazieres J, Lee A, et al. Inhibition of Wnt-1 signaling induces apoptosis in beta-catenin-deficient mesothelioma cells. *Cancer Res*. 2004;64(10):3474-8.
88. Nakashima T, Liu D, Nakano J, Ishikawa S, Yokomise H, Ueno M, et al. Wnt1 overexpression associated with tumor proliferation and a poor prognosis in non-small cell lung cancer patients. *Oncol Rep*. 2008;19(1):203-9.
89. Ohira T, Gemmill RM, Ferguson K, Kusy S, Roche J, Brambilla E, et al. WNT7a induces E-cadherin in lung cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(18):10429-34.
90. Uematsu K, He B, You L, Xu Z, McCormick F, Jablons DM. Activation of the Wnt pathway in non small cell lung cancer: evidence of dishevelled overexpression. *Oncogene*. 2003;22(46):7218-21.
91. Uematsu K, Kanazawa S, You L, He B, Xu Z, Li K, et al. Wnt pathway activation in mesothelioma: evidence of Dishevelled overexpression and transcriptional activity of beta-catenin. *Cancer Res*. 2003;63(15):4547-51.
92. Wei Q, Zhao Y, Yang ZQ, Dong QZ, Dong XJ, Han Y, et al. Dishevelled family proteins are expressed in non-small cell lung cancer and function differentially on tumor progression. *Lung Cancer*. 2008;62(2):181-92.
93. Sunaga N, Kohno T, Kolligs FT, Fearon ER, Saito R, Yokota J. Constitutive activation of the Wnt signaling pathway by CTNNB1 (beta-catenin) mutations in a subset of human lung adenocarcinoma. *Genes Chromosom Cancer*. 2001;30(3):316-21.
94. Ohgaki H, Kros JM, Okamoto Y, Gaspert A, Huang H, Kurrer MO. APC mutations are infrequent but present in human lung cancer. *Cancer Lett*. 2004;207(2):197-203.
95. Kase S, Sugio K, Yamazaki K, Okamoto T, Yano T, Sugimachi K. Expression of E-cadherin and beta-catenin in human non-small cell lung cancer and the clinical significance. *Clin Cancer Res*. 2000;6(12):4789-96.
96. Suzuki M, Shigematsu H, Nakajima T, Kubo R, Motohashi S, Sekine Y, et al. Synchronous alterations of Wnt and epidermal growth factor receptor signaling pathways through aberrant methylation and mutation in non small cell lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2007;13(20):6087-92.
97. Batra S, Shi Y, Kuchenbecker KM, He B, Reguart N, Mikami I, et al. Wnt inhibitory factor-1, a Wnt antagonist, is silenced by promoter hypermethylation in malignant pleural mesothelioma. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006;342(4):1228-32.
98. Lee AY, He B, You L, Dadfarmay S, Xu Z, Mazieres J, et al. Expression of the secreted frizzled-related protein gene family is downregulated in human mesothelioma. *Oncogene*. 2004;23(39):6672-6.
99. Tsuji T, Miyazaki M, Sakaguchi M, Inoue Y, Namba MA. A REIC gene shows down-regulation in human immortalized cells and human tumor-derived cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*. 2000;268(1):20-4.
100. Collins BJ, Kleeberger W, Ball DW. Notch in lung development and lung cancer. *Semin Cancer Biol*. 2004;14(5):357-64.
101. Aguayo AJ, Bray GM, Rasminsky M, Zwimpfer T, Carter D, Vidal-Sanz M. Synaptic connections made by axons regenerating in the central nervous system of adult mammals. *J Exp Biol*. 1990;153:199-224.
102. Bianchi L, Driscoll M. Heterologous expression of *C. elegans* ion channels in *Xenopus* oocytes. *WormBook*. 2006:1-16.
103. Shan L, Aster JC, Sklar J, Sunday ME. Notch-1 regulates pulmonary neuroendocrine cell differentiation in cell lines and in transgenic mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007;292(2):L500-9.
104. Greenblatt DY, Vaccaro AM, Jaskula-Sztul R, Ning L, Haymart M, Kunnimalaiyaan M, et al. Valproic acid activates notch-1 signaling and regulates the neuroendocrine phenotype in carcinoid cancer cells. *Oncologist*. 2007;12(8):942-51.
105. Sriuranpong V, Borges MW, Strock CL, Nakakura EK, Watkins DN, Blaumueller CM, et al. Notch signaling induces rapid degradation of achaete-scute homolog 1. *Mol Cell Biol*. 2002;22(9):3129-39.
106. Lee J, Platt KA, Censullo P, Ruiz i Altaba A. Gli1 is a target of Sonic hedgehog that induces ventral neural tube development. *Development*. 1997;124(13):2537-52.
107. Taipale J, Chen JK, Cooper MK, Wang B, Mann RK, Milenkovic L, et al. Effects of oncogenic mutations in Smoothened and Patched can be reversed by cyclopamine. *Nature*. 2000;406(6799):1005-9.
108. Ericson J, Morton S, Kawakami A, Roelink H, Jessell TM. Two critical periods of Sonic Hedgehog signaling required for the specification of motor neuron identity. *Cell*. 1996;87(4):661-73.
109. Vestergaard J, Pedersen MW, Pedersen N, Ensinger C, Tümer Z, Tommerup N, et al. Hedgehog signaling in small-cell lung cancer: frequent in vivo but a rare event in vitro. *Lung Cancer*. 2006;52(3):281-90.
110. Weaver M, Yingling JM, Dunn NR, Bellusci S, Hogan BL. Bmp signaling regulates proximal-distal differentiation of endoderm in mouse lung development. *Development*. 1999;126(18):4005-15.
111. Pasca di Magliano M, Hebrok M. Hedgehog signalling in cancer formation and maintenance. *Nat Rev Cancer*. 2003;3(12):903-11.
112. Barnes EA, Kong M, Ollendorff V, Donoghue DJ. Patched1 interacts with cyclin B1 to regulate cell cycle progression. *EMBO J*. 2001;20(9):2214-23.
113. Ohta M, Tateishi K, Kanai F, Watabe H, Kondo S, Guleng B, et al. p53-Independent negative regulation of p21/cyclin-de-

- pendent kinase-interacting protein 1 by the sonic hedgehog-glioma-associated oncogene 1 pathway in gastric carcinoma cells. *Cancer Res.* 2005;65(23):10822-9.
- 114.** Fan H, Khavari PA. Sonic hedgehog opposes epithelial cell cycle arrest. *J Cell Biol.* 1999;147(1):71-6.
- 115.** Yoshinori A, Tobiume K. The negative regulation of p53 by hedgehog signaling. *AACR.* 2006. Abstract 1135-b.
- 116.** Olsen CL, Hsu PP, Glienke J, Rubanyi GM, Brooks AR. Hedgehog-interacting protein is highly expressed in endothelial cells but down-regulated during angiogenesis and in several human tumors. *BMC Cancer.* 2004;4:43.
- 117.** Kanda S, Mochizuki Y, Suematsu T, Miyata Y, Nomata K, Kanetake H. Sonic hedgehog induces capillary morphogenesis by endothelial cells through phosphoinositide 3-kinase. *J Biol Chem.* 2003;278(10):8244-9.
- 118.** Osada H, Tatematsu Y, Yatabe Y, Horio Y, Takahashi T. ASH1 gene is a specific therapeutic target for lung cancers with neuroendocrine features. *Cancer Res.* 2005;65(23):10680-5.
- 119.** Linnoila RI, Zhao B, DeMayo JL, Nelkin BD, Baylin SB, DeMayo FJ, et al. Constitutive achaete-scute homologue-1 promotes airway dysplasia and lung neuroendocrine tumors in transgenic mice. *Cancer Res.* 2000;60(15):4005-9.
- 120.** Salon C, Moro D, Lantuejoul S, Bricchon Py P, Drabkin H, Brambilla C, et al. E-cadherin-beta-catenin adhesion complex in neuroendocrine tumors of the lung: a suggested role upon local invasion and metastasis. *Hum Pathol.* 2004;35(9):1148-55.
- 121.** Pelosi G, Scarpa A, Puppa G, Veronesi G, Spaggiari L, Pasini F, et al. Alteration of the E-cadherin/beta-catenin cell adhesion system is common in pulmonary neuroendocrine tumors and is an independent predictor of lymph node metastasis in atypical carcinoids. *Cancer.* 2005;103(6):1154-64.

Astrocitoma pilocítico juvenil con diseminación leptomeníngea

Juvenile pilocytic astrocytoma with leptomeningeal dissemination

► Andrés Felipe Cardona^{1,2}, Luis Eduardo Pino³, Milton Lombana³, León Darío Ortiz⁴, Nicolás Useche⁵

¹Grupo Oncología Clínica y Traslacional, Instituto de Oncología, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

²Fundación para la Investigación Clínica y Molecular Aplicada del Cáncer (FICMAC) (Bogotá, Colombia); investigador asociado ONCOLGroup.

³Departamento de Oncología y Hematología, Universidad Militar Nueva Granada, Hospital Militar Central (Bogotá, Colombia).

⁴Departamento de Oncología Clínica, Sección Neurooncología, Instituto de Cancerología, Clínica Las Américas (Medellín, Colombia).

⁵Departamento de Imágenes Diagnósticas, Sección Neurorradiología, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

Se exponen las imágenes de un hombre de 22 años que ingresó al servicio de urgencias de la Fundación Santa Fe de Bogotá por presentar un cuadro clínico de 14 días de evolución caracterizado por cefalea global pulsátil con signos de alarma por diplopía horizontal, emesis incoercible, agitación y desorientación temporoespacial. Durante la evaluación inicial, se documentó postura tónica sin relajación de esfínteres, evento que fue muy similar al presentado en el 2001, después del cual se documentó un sangrado mesencefálico, que se interpretó extrainstitucionalmente como secundario a una alteración alterovenosa. No obstante, en el 2010, se realizó una resonancia cerebral que documentó una lesión irregular localizada en la cisterna cuadrigeminal con extensión a través del conducto de Silvio hasta el cuarto ventrículo; dicha alteración parecía originarse a nivel pineal, presentaba captación heterogénea del medio de contraste, especialmente en la periferia, y no tenía hidrocefalia obstructiva, pero sí efecto compresivo sobre el mesencéfalo. También se evidenció en el

FLAIR y en la secuencia T1 con medio de contraste una alteración de la señal y realce alrededor del acueducto, en las cisternas basales, en los surcos cerebrales y en la cisterna supraselar. Estos hallazgos indicaron una posible diseminación leptomeníngea e intracraneana de un tumor por establecer (figura 1).

De igual forma, se examinó la columna vertebral, encontrando metástasis en gota a nivel dorsal y lumbar (figuras 2a y 2b). Bajo la impresión de un posible tumor germinal, se decidió efectuar una biopsia, que se llevó a cabo el 15 de octubre del mismo año. La patología describió la presencia de un tumor astrocitario de bajo grado, compatible con un astrocitoma pilocítico juvenil con diseminación leptomeníngea. Durante los últimos 20 meses de observación, no se encontraron cambios clínicos, hasta julio del 2012 cuando describió mayor afectación visual en relación con el aumento de las lesiones supraselares y de las cisternas basales (figura 3) y del realce leptomeníngeo multifocal (figuras 4 y 5).

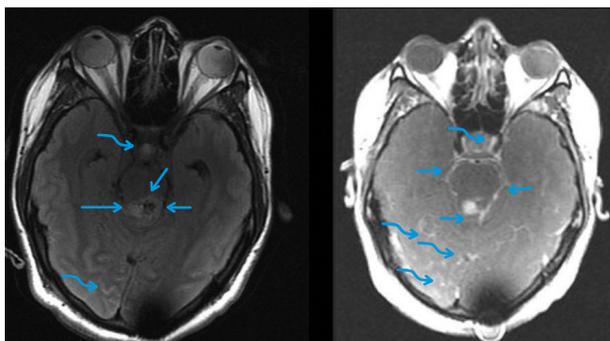


Figura 1. Los cortes axial FLAIR (derecha) y axial T1 con medio de contraste (izquierda) documentaron una alteración de la señal y realce, especialmente alrededor del acueducto y en las cisternas basales, acompañados de un nódulo neoplásico (flecha). También se identificó aumento de la señal y realce con contraste en los surcos cerebrales y en la cisterna supraselar (flechas curvas). Estos hallazgos indicaron la presencia de una diseminación leptomeníngea intracraneana e intraventricular.



Figura 2a. Cortes sagital T2 (izquierda) y T1 con contraste (derecha) de la columna torácica. No se descarta cualquier alteración en los cuerpos vertebrales, en presencia de realce que indica diseminación leptomeníngea (flechas) y metástasis "en gota" (flecha curva).

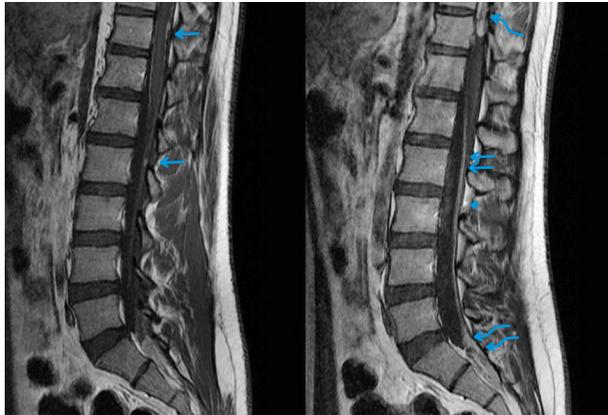


Figura 2b. Cortes sagitales T1 con contraste de la columna lumbar. Se observan metástasis leptomeníngicas (flecha), perirradiculares (flecha doble), en el cono medular (flecha curva) y en el fondo del saco tecal (flecha curva doble).

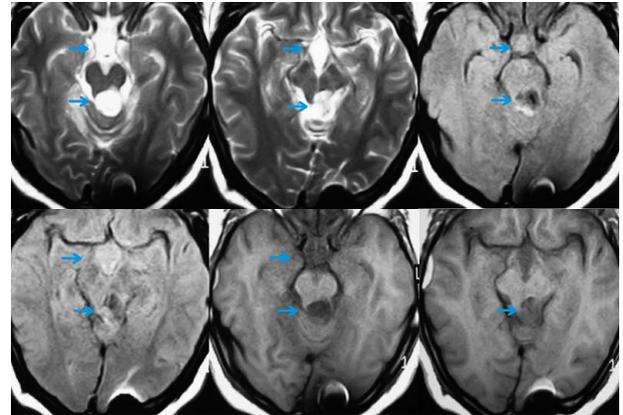


Figura 3. Cortes axial T2 y FLAIR (superiores) y axial T1 simple (inferiores). Se observa leve aumento en la alteración de la señal y en el tamaño de las lesiones supraselares y en las cisternas basales (flechas).

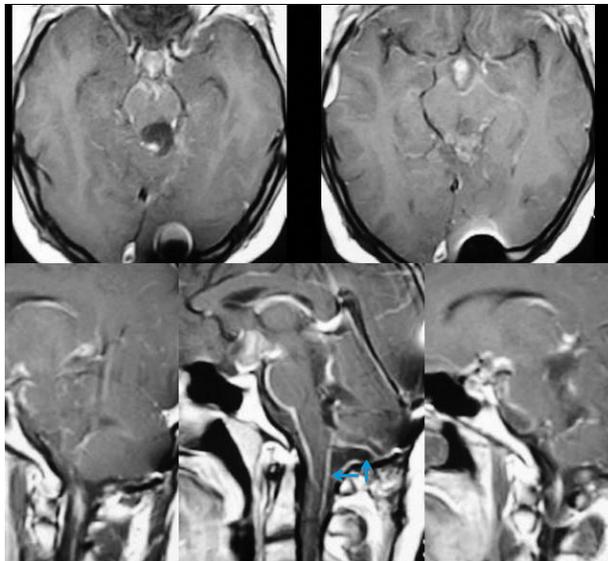


Figura 4. Cortes axiales (superiores) y sagitales en T1 con contraste (inferiores). Aumento en el realce leptomeníngico a nivel del aspecto posterior de la médula y en el cerebelo (flechas).

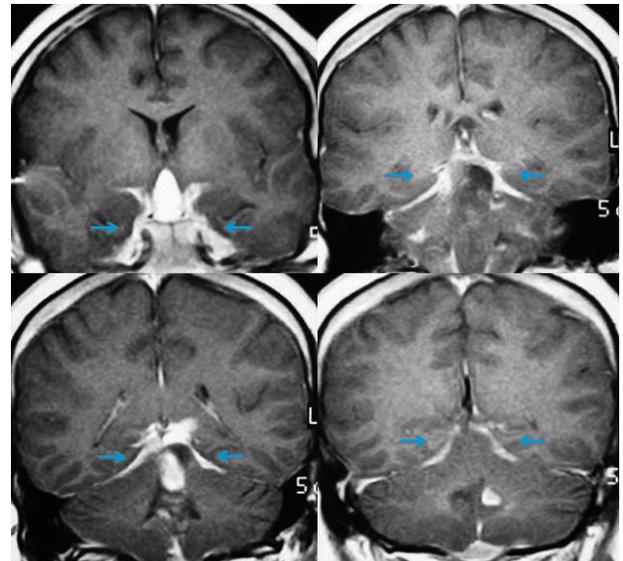


Figura 5. Cortes coronales en T1 con contraste. Aumento en el realce leptomeníngico en el cavum de Meckel y en el tentorio (flechas).

De forma general, los astrocitomas pilocíticos tienen un crecimiento lento y suelen presentarse con mayor frecuencia en los niños y adultos jóvenes; su localización más común es en los hemisferios cerebelosos y en la vecindad del tercer ventrículo, pero con alguna frecuencia se documentan en los hemisferios cerebrales¹. Raramente sufren una transformación maligna, evento que ocurre al menos en el 5% de los casos y que suele suceder después de la radioterapia en el 60 al 80% de los tumores de patrón esporádico; se demuestra una duplicación en tándem del cromosoma 7q34 que se asocia con el gen de fusión BRAF-KIAA². La diseminación leptomeníngica es rara, y la supervivencia reportada luego de este evento es inferior a 65 meses; no

obstante, un segmento de los pacientes se beneficia de la administración de quimioterapia, utilizando agentes como la temozolamida³.

Referencias

1. Schneider JH Jr, Raffel C, McComb JG. Benign cerebellar astrocytomas of childhood. *Neurosurgery*. 1992;30(1):58-62.
2. Horbinski C, Hamilton RL, Nikiforov Y, Pollack IF. Association of molecular alterations, including BRAF, with biology and outcome in pilocytic astrocytomas. *Acta Neuropathol*. 2010;119(5):641-9.
3. Mazloom A, Hodges JC, Teh BS, Chintagumpala M, Paulino AC. Outcome of patients with pilocytic astrocytoma and leptomeningeal dissemination. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2012;84(2):350-4.

Everolimus y astrocitoma subependimario de células gigantes con degeneración quística

Everolimus and subependymal giant cell astrocytoma with cystic degeneration

► Carlos Emilio Restrepo¹, Andrés Felipe Cardona^{2,4}, Luis Carlos Mayor⁵, Enrique Jiménez^{1,4}

¹Departamento de Neurocirugía, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

²Grupo Oncología Clínica y Traslacional, Instituto de Oncología, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

³Fundación para la Investigación Clínica y Molecular Aplicada del Cáncer (FICMAC); investigador asociado ONCOLGroup.

⁴Investigador asociado Red Latino Americana de Neuro-Oncología (RedLANO).

⁵Departamento de Neurología, Sección Epileptología, Fundación Santa Fe de Bogotá (Bogotá, Colombia).

Resumen

El complejo esclerosis tuberosa (CET) se caracteriza por la presencia de hamartomas en múltiples órganos, incluyendo el cerebro. Entre el 5% y 20% de quienes lo padecen presentan astrocitomas subependimarios de células gigantes (SEGA, por su sigla en inglés), hallazgo que se asocia a una elevada tasa de morbimortalidad atribuible a hidrocefalia obstructiva. El manejo clásico de los SEGA consiste en la resección quirúrgica, intervención que se relaciona en la actualidad a medicamentos que modulan la vía de señalización mTOR. Experimentos clínicos recientes han demostrado una reducción consistente del volumen tumoral, lo que favorece el control de las crisis epilépticas, hecho que mejora la calidad de vida. A continuación, se presenta el caso de un paciente de 16 años con diagnóstico de CET, a quien se documentó un SEGA con degeneración quística tratado después de dos resecciones quirúrgicas secuenciales con everolimus; dicho manejo permitió una respuesta parcial máxima asociada a la desaparición de otras manifestaciones neurológicas. La utilidad de medicamentos dirigidos a modular blancos moleculares específicos representa una opción terapéutica real en pacientes con el CET que presentan SEGA.

Palabras clave: Complejo esclerosis tuberosa, astrocitoma subependimario de células gigantes, mTOR, everolimus, hamartina, tuberina.

Abstract

The tuberous sclerosis complex (TSC) is characterized by the presence of hamartomas in many organs, including the brain; 5% to 20% of those suffering from TSC present subependymal giant cell astrocytoma (SEGA), such finding being associated with a high rate of morbimortality attributable to obstructive hydrocephalus. The classical management of SEGAs consists of surgical resection, such intervention being currently associated with drugs modulating the mTOR signalling pathway. Recent clinical trials have demonstrated that consistent tumor volume reduction has promoted the control of epileptic crises, thereby improving the quality of life. The case of a 16-year-old TSC patient is presented below who was diagnosed with SEGA accompanied by cystic degeneration treated with everolimus following two sequential surgical resections; such management led to a maximum partial response associated with the disappearance of other neurological manifestations. The efficacy of drugs directed to modulate specific molecular targets represent a real treatment option for patients with tuberous sclerosis and SEGA.

Key words: Tuberous sclerosis complex, subependymal giant cell astrocytoma, mtor, everolimus, hamartin, tuberin.

Introducción

El complejo esclerosis tuberosa (CET), también conocido como síndrome de Bourneville Pringle o Epiloia, es una enfermedad hereditaria autosómica dominante con penetrancia incompleta presente en 1 de cada 6.000 nacidos vivos. Con frecuencia produce lesiones en la retina (hamartomas astocíticos o facomas), piel (angiofibromas y máculas hipomelanóticas), pulmones (linfangioleiomiomatosis), riñones (angiomiolipomas) y en el

corazón (rabdomiomas). De igual forma, suele afectar al sistema nervioso central, donde genera cambios descritos desde 1862¹⁻³; la manifestación neurológica más común es la epilepsia, que se presenta en el 70% al 80% de los pacientes y que se relaciona de modo regular con la existencia de alteraciones cognitivas que incluyen el retraso en el desarrollo psicomotor, diversos trastornos del aprendizaje o neurocomportamentales tipo autista. Estos hallazgos se relacionan de manera directa o indirecta con la presentación de tuberomas

DATOS DE CONTACTO

Correspondencia: Andrés Felipe Cardona, MD, MSc, PhD¹; Grupo Oncología Clínica y Traslacional, Instituto de Oncología, Fundación Santa Fe de Bogotá.

Dirección: Calle 119 N° 7-75. **Teléfono:** (+571) 603 0303 ext. 5227. **Correos electrónicos:** a_cardonaz@yahoo.com - andres.cardona@fsfb.org.co

Fecha de recepción: 26 de abril de 2012. **Fecha de aprobación:** 15 de mayo de 2012.

Conflictos de interés: Andrés Felipe Cardona recibió en el pasado un estipendio restringido de Novartis S.A. y hace parte del Consorcio Colombiano para el Estudio de las Neurodermatosis, encargado de desarrollar el Registro Colombiano de TSC.

corticales, heterotopias de la sustancia blanca y nódulos subependimarios, alteraciones que se caracterizan por una patogénesis común asociada a cambios en la migración y diferenciación anormal de las células embrionarias localizadas en la región subventricular²⁻⁴.

Es usual encontrar lesiones subependimarias de carácter nodular, que evolucionan en el tiempo hasta generar SEGA. Adriansen y colaboradores describieron, a partir de un estudio de corte transversal que incluyó 285 pacientes con el CET, la evidencia de estas neoplasias en el 20% de los casos, con un diámetro promedio al momento del diagnóstico de 11.4 mm (± 4.2 mm) y la presencia de hidrocefalia en un 14%⁵.

La gran mayoría de los SEGA se acompañan de otros nódulos subependimarios que no exhiben de forma constitutiva la pérdida de heterocigocidad ni la autofosforilación proteica de la vía mTOR (*mammalian target of rapamycin*)⁶. Desde la perspectiva clínica, es importante distinguir los nódulos no neoplásicos de los SEGA, debido a la influencia sobre las intervenciones terapéuticas; por el momento, los criterios imaginológicos que se asocian con mayor agresividad son el tamaño tumoral, la localización de la lesión y su potencial para obstruir el drenaje normal del líquido cefalorraquídeo, la intensidad de señal en las secuencias T1 y la velocidad de crecimiento^{7,8}.

El origen de las lesiones tumorales está vinculado a la activación de las mutaciones en los genes TSC1 y 2, cuyos productos derivados de la transcripción son la hamartina y tuberina, proteínas encargadas de promover la hidrólisis de GTP a través de una *GTPasa* del Rheb. Varios estudios han revelado que este complejo juega un papel esencial en el control del tamaño celular de la glía a través de la expresión del receptor para el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGFR-1). Otros genes encargados de favorecer la progresión tumoral de los SEGA son el LKB1 (*liver kinase B1*) y el PTEN, los cuales conllevan mutaciones secundarias que favorecen la activación del factor derivado de la hipoxia tipo 1 (HIF1) y la supresión del p53⁹⁻¹¹.

Clásicamente, el manejo de los SEGA estuvo circunscrito a la cirugía y a la radioterapia. En el pasado, hasta el 70% de los pacientes eran operados de urgencia con signos de hipertensión endocraneana y morbilidad a largo plazo, sin embargo, Kruger y colaboradores introdujeron el uso de nuevas estrategias farmacológicas dirigidas contra la cascada derivada del mTOR

(rapamicina y everolimus)¹². A continuación, se presenta el caso de un paciente con SEGA tratado con everolimus después de dos exéresis parciales.

Descripción del caso

Se trata de un paciente de 16 años de edad con el CET diagnosticado a los 14 meses por la presencia de máculas hipomelanóticas, angiofibromas faciales y crisis mioclónicas manejadas con vigabatrina. En la primera resonancia magnética nuclear (RMN), tomada a los 17 meses de edad, se identificó la presencia de múltiples tuberomas corticales y nódulos subependimarios en los ventrículos laterales, especialmente, uno en el cuerno frontal izquierdo adyacente al foramen de Monro de 0.9 x 1.0 x 0.6 cm (figura 1C y tabla 1A), corroborando así el diagnóstico de la enfermedad. Por el adecuado control de la epilepsia, se suspendió el medicamento cuatro años después de su inicio; sin embargo, durante el año 2008, el paciente debutó con un nuevo episodio, para lo cual retomó la vigabatrina. Luego de dos meses, las crisis se hicieron más frecuentes, requiriendo el aumento de la dosis y la adición de lamotrigina y levetiracetam (tabla 1D-F).

En las imágenes de control realizadas en el 2010 (figura 1D-F), se identificó el crecimiento progresivo del nódulo subependimario del cuerno frontal izquierdo, que medía inicialmente 0.8 cm³ y alcanzó 5.6 cm³ (tabla 1B-E). Dicha modificación en el volumen condicionó una obstrucción parcial del foramen de Monro, razón por la cual se decidió llevar a cirugía en junio del 2010, logrando una resección parcial de la lesión; el reporte de la patología fue compatible con un SEGA. A pesar del manejo farmacológico, el paciente persistió con un pobre control de las crisis, por lo que el esquema se cambió incluyendo ácido valproico por el levetiracetam.

En la RMN de control hecha en diciembre del 2010, se halló crecimiento de la lesión, especialmente en su componente quístico (tabla 1G), que ya se visualizaba en el estudio imaginológico previo (tabla 1F). Sin embargo, por la estabilidad clínica, se decidió continuar el seguimiento. Para mayo del 2011, el paciente se tornó sintomático con indicios de hipertensión endocraneana, por lo cual se tomó una RMN que mostró un aumento de la lesión con evidencia radiológica de hidrocefalia y extensión al tercer ventrículo (figura 1G-I y tabla 1H),

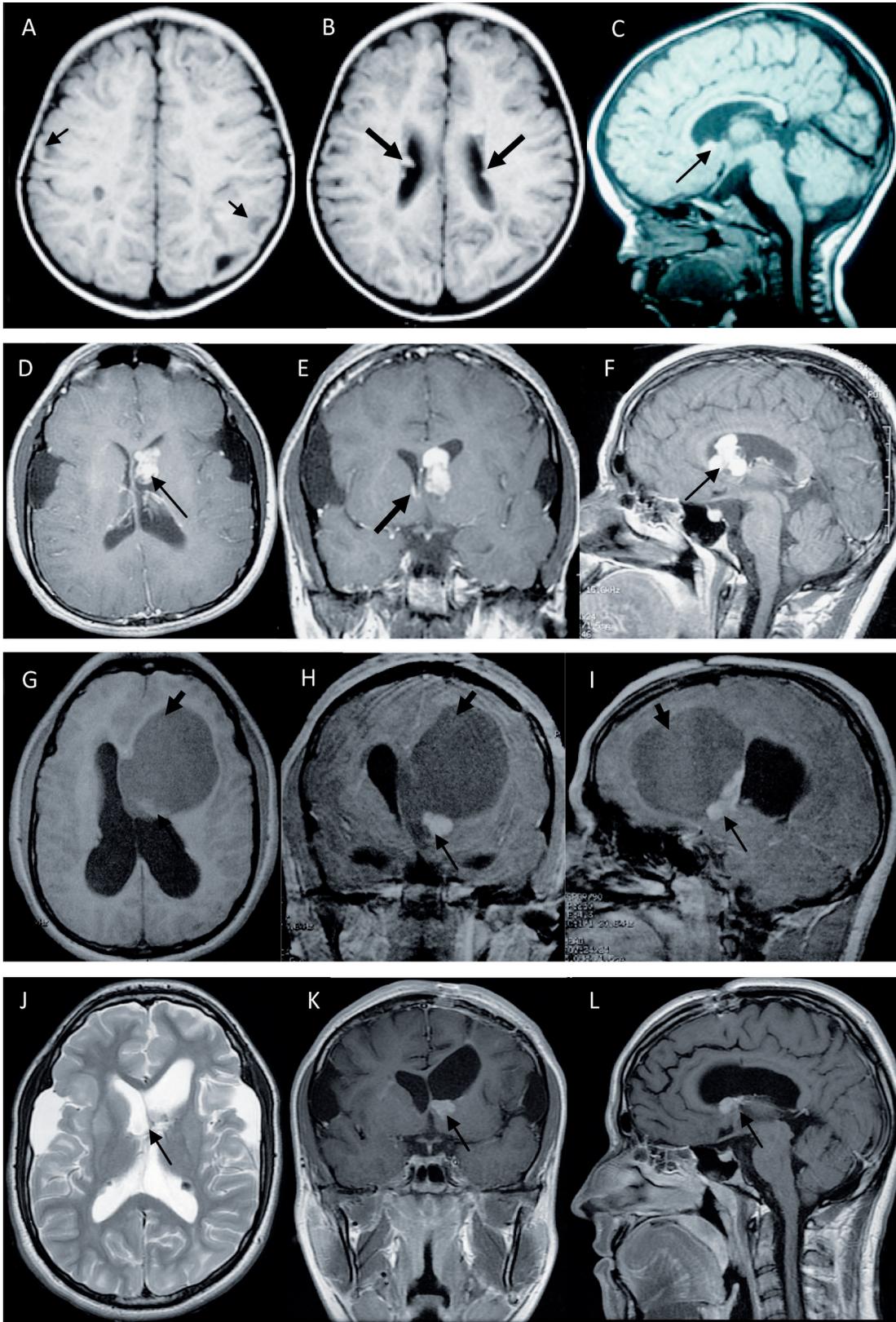


Figura 1. RMN cerebral durante el período de observación radiológica. Esta muestra la evolución del SEGA a partir de un nódulo subependimario a los 17 meses (A-C) y 16 años (D-F). En el período quirúrgico, se evidencia el crecimiento del componente sólido y la degeneración quística del SEGA tras el primer posoperatorio en el 2011 (G-I). En el período de manejo farmacológico con el inhibidor mTOR (everolimus), las imágenes control a los 5 meses (J-L) demuestran la disminución del componente sólido, no hay evidencia del componente quístico. Túberes (→), nódulos subependimarios (←), SEGA sólido (→), SEGA quístico (→).

Tabla 1. Evolución de la enfermedad y medicación relacionada con el control de las crisis epilépticas

	Fecha RMN/(edad)	Volumen	Medicamento
	Observación	Observación	Observación
A	Abril 1995/(17 meses)	0.9 x 1 x 0.6 cm = 0.27 cm ³	Vigabatrina (14 meses a los 5 años)
B	Octubre 2000/(6 años)	1 x 1.6 x 1 cm = 0.8 cm ³	No
C	Julio 2004/(10 años)	1.8 x 2 x 1 cm = 1.8 cm ³	No
D	Septiembre 2008/(14 años)	2.1 x 2 x 1 cm = 2.1 cm ³	Vigabatrina 1.000 mg/día Vigabatrina 2.000 mg/día Lamotrigina 100 mg/día
E	Abril 2010/(16 años)	2.5 x 2.5 x 1.8 cm = 5.6 cm ³	Vigabatrina 4.000 mg/día Lamotrigina 500 mg/día Levetiracetam 1.500 mg/día
	Cirugía	Cirugía	Cirugía
F	Julio 2010/(16 años) (Primer posoperatorio)	Sólido: 2.6 x 1.5 x 1.7 cm = 3.3 cm ³ quiste: 3 x 2.1 x 3.6 cm = 11.3 cm ³	Vigabatrina 4.000 mg/día Lamotrigina 500 mg/día Levetiracetam 1.500 mg/día
G	Diciembre 2010/(17 años)	Sólido: 3 x 1.8 x 1.6 cm = 4.32 cm ³ Quiste: 5 x 6.4 x 3.9 cm = 6.2 cm ³	Vigabatrina 3.500 mg/día Lamotrigina 300 mg/día Ácido valproico 500 mg/día
H	3 de mayo 2011/(17 años)	Sólido: 3.4 x 2 x 1.8 cm = 6.12 cm ³ Quiste: 6 x 7 x 5 cm = 10.5 cm ³	Vigabatrina 1.500 mg/día Lamotrigina 300 mg/día Ácido valproico 500 mg/día
I	7 de mayo 2011/(17 años) (Segundo posoperatorio)	1.6 x 2.2 x 2.4 cm = 4.4 cm ³ Técnica de volumetría 3D: 4.9 cm ³	Vigabatrina 1.500 mg/día Lamotrigina 300 mg/día Ácido valproico 500 mg/día Losartán 25 mg/día
	Inhibidor mTOR	Inhibidor mTOR	Inhibidor mTOR
J	Septiembre 2011/(17 años) (Control 3 meses)	1.1 x 1.5 x 1.3 cm = 1.07 cm ³	Vigabatrina 500 mg/día Lamotrigina 300 mg/día Ácido valproico 250 mg/día Everolimus 5 mg/día Losartán 25 mg/día
K	Diciembre 2011/(18 años) (Control 5 meses)	1 x 1.4 x 1.38 cm = 0.96 cm ³ Técnica de volumetría 3D: 0.97 cm ³	Vigabatrina 500 mg/día Lamotrigina 300 mg/día Ácido valproico 250 mg/día Everolimus 5 mg/día Amlodipino 5 mg/día Losartán 25 mg/día Atorvastatina 20 mg/día

Correlación entre el volumen del SEGA, el tiempo y los requerimientos de medicación. Período de observación radiológica (A-E), período quirúrgico (F-I) y período de manejo farmacológico con inhibidor mTOR (everolimus) (J-K).

razón por la que se llevó por segunda ocasión a cirugía, consiguiendo la resección completa del quiste, pero dejando un remanente sólido (tabla 1I).

Ante la recurrencia de la lesión, se decidió iniciar everolimus 5 mg/día (3 mg/m²/día) a partir de junio del 2011. En el primer control, llevado a cabo tras completar tres meses de la medicación, se encontró resolución completa de las crisis epilépticas, lo que permitió la disminución progresiva del tratamiento. Igualmente, se identificó una regresión de los angiofibromas faciales y se documentó en la RMN de control una reducción significativa del tamaño del SEGA sin evidencia alguna del componente quístico (el 79% por técnica de volumetría 3D y el 76% por medición de la elipsoide) (tabla 1J).

El paciente ha mostrado buena tolerancia al medicamento, excepto por un episodio de estomatitis autolimitada, hipercolesterolemia e hipertensión arterial, eventos adversos manejados con losartán y atorvastatina. Para el siguiente control (cinco meses después de iniciar el inhibidor mTOR), se mantuvo la mejoría clínica y la regresión de la lesión, que ahora presenta un volumen

de 0.97 cm³ (figura 1J-L y tabla 1K). De igual forma, el entorno familiar refiere una recuperación subjetiva del rendimiento académico.

Discusión

La principal causa de muerte en pacientes con el CET está relacionada con diversas complicaciones neurológicas. Los SEGA pueden generar muerte súbita secundaria a hidrocefalia obstructiva, por lo cual se recomienda llevar a cabo imágenes y un seguimiento periódico (cada seis meses a un año), con el objetivo de documentar cualquier variación en el crecimiento^{8,9,13,14}. Aunque se considera al SEGA como una lesión de crecimiento lento, existen algunos criterios que ayudan a decidir cuándo efectuar una cirugía antes de que el paciente se torne sintomático. Ribaupierre y colaboradores propusieron que las lesiones mayores de 5 mm próximas al foramen de Monro y con calcificación incompleta en las que se demuestre un aumento progresivo del tamaño en dos imágenes consecutivas deben ser llevadas a cirugía⁸.

La resección quirúrgica macroscópica asegura un adecuado control de la lesión en la mayoría de los casos, no obstante, solo se logra en el 20%, debido a la relación con estructuras interventriculares, como el núcleo caudado, el epéndimo y el fórnix^{8,15}. Cuando no se logra una exéresis completa, existe un alto riesgo de recurrencia y la consecuente necesidad de otras intervenciones quirúrgicas; sin embargo, también existe la posibilidad de que la lesión tumoral permanezca estable, especialmente en la adultez¹⁶. Nuestro paciente representa el ejemplo clásico de la progresión de la enfermedad y lo que implicó su manejo quirúrgico; durante la niñez, hubo un crecimiento lento de uno de los nódulos subependimarios adyacentes al foramen de Monro, y, al entrar a la adolescencia, se documentó un aumento rápido de la lesión con obstrucción parcial asociada a exacerbación de las crisis epilépticas, razón por la cual se recurrió a la cirugía sin lograr una resección completa, evento que predispuso a la progresión.

Una situación particular reportada en este caso es la presencia de un componente quístico, el cual es infrecuente¹⁷; este progresa en conjunto con la porción sólida, tornándose sintomático. Aunque el manejo quirúrgico es la primera opción en este tipo de lesiones, conlleva riesgos como la hemiparesia (transitoria 12% y permanente 6%)¹⁸, disminución de la agudeza visual (20%)¹⁶ y alteraciones cognitivas y de la memoria (5%)⁸, o generales, como el sangrado (13%)¹⁸, la infección (20%)¹⁹ e, incluso, la muerte (13%)¹⁸.

El CET es causado por mutaciones que inactivan los genes TSC1 y 2; el primero de ellos, localizado en el cromosoma 9p34, mide 45 Kb y está dividido en 23 exones que codifican un mRNA de 8.6 Kb con un producto funcional denominado hamartina, una proteína de 1.164 aminoácidos. Se han descrito diversos tipos de mutaciones desde los cambios puntuales en una base hasta extensas deleciones. El gen TSC2 está ubicado en el segmento 16p13, mide 43 Kb y está dividido en 41 exones que codifican la tuberina, una proteína de 1.807 aminoácidos que presenta heterogeneidad mutacional^{20,21}. La hamartina y la tuberina interactúan al formar un complejo funcional que interrumpe el proceso de señalización de la vía mTOR, inhibe la PI3K (fosfatidil inositol-3-kinasa) y la activación de señales dependientes de factores de crecimiento derivados de la insulina (IGF1 e IGF2).

Así mismo, interactúa con otros genes, como AKT1,

CLIP1, GPHN, P70-S6 kinasa, RHEB, RICTOR, STAT1 y STAT3^{21,22,23}. Además, activa la *GTPasa* de RHEB, que, a su vez, regula a mTOR, la cual está involucrada en el crecimiento, proliferación, síntesis proteica, metabolismo y supervivencia celular^{2,3,9}. Por todas estas consideraciones, parecía claro que mTOR constituye un blanco farmacológico para el control del CET. En la actualidad, existen dos inhibidores de este complejo aprobados internacionalmente para el uso en humanos, la rapamicina (sirolimus) y el RAD001 (everolimus). La utilidad de estos compuestos se ha probado en estudios preclínicos y experimentos fase I y II, dando como resultado el control y la disminución en el tamaño de los hamartomas encontrados en diferentes órganos de los pacientes con el CET¹⁴. En el *Trial of rapamycin therapy for patients with tuberous sclerosis complex and sporadic LAM*, se demostró la disminución de los angiomiolipomas en el 53%, aparte de una mejoría significativa en las pruebas de función pulmonar²⁴.

De manera similar, el Tesstal documentó una disminución en los angiomiolipomas renales del 50% después de 12 meses de tratamiento²⁵. Otros han descrito la retracción de los rabdomiomas cardíacos después de la administración de everolimus²⁶ y la notable mejoría de las lesiones cutáneas utilizando preparaciones tópicas de los inhibidores mTOR^{27,28}. Cabe resaltar que en nuestro caso el paciente ha tenido una disminución progresiva de los angiomiolipomas faciales luego del inicio del everolimus. Del mismo modo en que se ha estudiado el uso de los inhibidores mTOR para el manejo de los angiomiolipomas, varios estudios han reportado su utilidad en los pacientes con SEGA. Franz y colaboradores informaron, en el 2006, el uso del sirolimus en cinco pacientes con el CET que presentaban SEGA; esta intervención permitió una reducción en el tamaño de las lesiones que osciló entre el 45% y 62% tras una mediana de tiempo para el tratamiento de 7.3 meses²⁹. En vista de estos resultados, entre el 2008 y 2010, se informaron cinco pacientes más, todos con una disminución del tamaño que varió entre el 37% y 82% después de 2 a 5 meses de exposición al sirolimus^{30,31,32}.

Luego de la aprobación del everolimus como inmunomodulador en pacientes postrasplante renal y cardíaco, y para el tratamiento de sujetos con carcinoma renal de células claras, Yalon reportó el primer caso de un SEGA tratado exitosamente con este medicamento. Este correspondió a un paciente de 28 años con múltiples

lesiones, sometido a varias cirugías, que, después de 11 meses de manejo con el inhibidor mTOR, obtuvo respuesta y mejoría clínica que se limitó debido a la presentación de hipertensión y aumento de la CPK³³. Posteriormente, Krueger y colaboradores informaron los resultados del estudio de registro que incluyó 28 pacientes con una edad promedio de 11 años tratados con everolimus a una dosis inicial de 3 mg/m² día ajustada según niveles cuantificados durante los primeros seis meses de tratamiento (5-15 ng/mm).

La mediana de duración de la intervención fue 21.5 meses y la disminución de los SEGA fue de al menos el 30% en 21 sujetos (75%) y del 50% en nueve pacientes (32%); la reducción más notable se encontró en los primeros tres meses de intervención, especialmente en las lesiones de mayor tamaño, y los efectos adversos más comunes fueron las infecciones respiratorias del tracto superior, la estomatitis y la dislipidemia¹². Según nuestro conocimiento, el presente caso es el número 30 reportado en la literatura y describe la mejoría global de un paciente con el CET y SEGA quístico recurrente manejado con everolimus. En él, se registró una evidencia imaginológica de regresión tumoral del 79% en los primeros tres meses con la presentación de una morbilidad conocida y manejable.

Un aspecto que se evaluó por primera vez de forma sistemática en el estudio de Krueger fue la mejoría de las crisis epilépticas, de la calidad de vida y del nivel cognitivo de los pacientes. En la actualidad, existe la hipótesis de que la vía mTOR está involucrada en la fisiopatología de la epileptogénesis y de que su hiperactivación conlleva la formación anormal de estructuras y sinapsis neuronales, así como la expresión alterada de neurotransmisores y de canales iónicos implicados en la epilepsia⁹. Hasta el momento, hay varios modelos que refuerzan esta teoría, entre otros, la presencia de crisis en ratones con inactivación en el gen TSC1, que es reversible con la administración de sirolimus y que regresa con la supresión del medicamento^{34,35}. Frecuentemente, se cree que el déficit cognitivo y las alteraciones neuropsiquiátricas que se observan en el CET son atribuibles a la presencia de los túberes corticales y a la epilepsia, sin embargo, se presume que el 50% de los casos tienen esta asociación⁴.

Estudios en modelos murinos con pérdida de la funcionalidad por heterocigocidad de los genes TSC1 y 2 han encontrado cambios en la capacidad cognitiva

en ausencia de epilepsia, túberes corticales o anomalías estructurales en las neuronas. Estos ratones tuvieron problemas de aprendizaje, memoria y ubicación visoespacial, al igual que alteraciones en el comportamiento social, hallazgos que mejoraron después de la administración de rapamicina³⁶. Desde la perspectiva clínica, también documentaron una reducción significativa en la frecuencia de las crisis epilépticas, ya que, de los 16 pacientes en los que se reportó un electroencefalograma (EEG) de base, se halló que en 9 disminuyó la frecuencia del daño, en 6 no cambió y solo en 1 empeoró. Respecto de la calidad de vida, hubo una mejoría global sin lograr identificar cambios considerables en la perspectiva intelectual y en las evaluaciones neuropsicológicas¹².

Recientemente, el mismo grupo informó un cambio relevante en la difusión de la materia blanca, sugiriendo que el defecto genético a nivel cerebral puede ser modificado farmacológicamente³⁷. En el momento, se está desarrollando un estudio para determinar el impacto real del everolimus sobre las crisis epilépticas y el estado neurocognitivo de los pacientes con el CET (NCT01070316). En nuestro caso, hubo una mejoría completa de la epilepsia, lo que permitió el retiro progresivo de la medicación para este fin, así como la recuperación progresiva del rendimiento escolar sin que se hayan practicado pruebas neuropsicológicas pre y pos everolimus.

Un aspecto importante y hasta el momento no establecido en el tratamiento con inhibidores mTOR en CET es el tiempo de duración requerido para mantener los efectos terapéuticos^{39,40}; de los primeros 5 casos reportados por Franz y colaboradores, 1 paciente presentó crecimiento de la lesión después de haber recibido rapamicina por cinco meses, requiriendo el reinicio del medicamento, con el que se obtuvo una segunda respuesta favorable a los 20 meses²⁹. Por otro lado, Krueger y colaboradores observaron una mediana de duración para el tratamiento de 21.5 meses (4.7-34.4), 27 de los 28 pacientes completaron el ciclo básico de seis meses, 2 de estos descontinuaron a los 12.5 y 21.5 meses, y otro paciente de los que había completado los criterios de reducción mayor del 75% descontinuó el medicamento, documentándose un crecimiento de la lesión, por lo cual se reinició¹². Nuestro paciente ha continuado el medicamento, logrando hasta el momento de la publicación un efecto terapéutico positivo sin

mayor toxicidad, sin embargo, hace falta un seguimiento más prolongado para establecer la duración ideal y la estabilidad a largo plazo.

Conclusiones

La evidencia creciente acerca de la utilidad de medicamentos dirigidos a modular blancos moleculares específicos representan una opción terapéutica real en pacientes con el CET que presentan SEGA, no solo por el efecto que ejercen sobre el crecimiento del tumor, sino también como parte del control genético de la enfermedad, lo que permite controlar otras

manifestaciones neurológicas, como la epilepsia y los hamartomas localizados en otros órganos. Los autores concuerdan con el algoritmo que propone que las lesiones subependimarias con criterios para SEGA o aquellas sintomáticas se traten con cirugía, siguiendo los casos con resección completa para identificar recurrencias tardías. Por otra parte, en quienes se logre una exéresis parcial se puede considerar una segunda intervención o el manejo farmacológico con everolimus¹⁵. Se requieren más estudios para valorar la efectividad de estos medicamentos utilizados de forma temprana o para el control de las crisis, incluyendo una evaluación integral de la toxicidad con el uso a largo plazo.

Referencias

- Osborne JP, Fryer A, Webb D. Epidemiology of tuberous sclerosis. *Ann N Y Acad Sci.* 1991;615:125-7.
- Crino PB, Nathanson KL, Henske EP. The tuberous sclerosis complex. *N Engl J Med.* 2006;355(13):1345-56.
- Curatolo P, Bombardieri R, Jozwiak S. Tuberous sclerosis. *Lancet.* 2008;372(9639):657-68.
- Ehninger D, de Vries PJ, Silva AJ. From mTOR to cognition: molecular and cellular mechanisms of cognitive impairments in tuberous sclerosis. *J Intellect Disabil Res.* 2009;53(10):838-51.
- Adriaensen ME, Schaefer-Prokop CM, Stijnen T, Duyndam DA, Zonnenberg BA, Prokop M. Prevalence of subependymal giant cell tumors in patients with tuberous sclerosis and a review of the literature. *Eur J Neurol.* 2009;16(6):691-6.
- Chan JA, Zhang H, Roberts PS, Jozwiak S, Wieslawa G, Lewin-Kowalik J, et al. Pathogenesis of tuberous sclerosis subependymal giant cell astrocytomas: biallelic inactivation of TSC1 or TSC2 leads to mTOR activation. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2004;63(12):1236-42.
- Goh S, Butler W, Thiele EA. Subependymal giant cell tumors in tuberous sclerosis complex. *Neurology.* 2004;63(8):1457-61.
- de Ribaupierre S, Dorfmueller G, Bulteau C, Fohlen M, Pinard JM, Chiron C, et al. Subependymal giant-cell astrocytomas in pediatric tuberous sclerosis disease: when should we operate? *Neurosurgery.* 2007;60(1):83-9.
- Wong M. Mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibition as a potential antiepileptogenic therapy: from tuberous sclerosis to common acquired epilepsies. *Epilepsia.* 2010;51(1):27-36.
- Inoki K, Guan KL. Tuberous sclerosis complex, implication from a rare genetic disease to common cancer treatment. *Hum Mol Genet.* 2009;18(R1):R94-100.
- Mieulet V, Lamb RF. Tuberous sclerosis complex: linking cancer to metabolism. *Trends Mol Med.* 2010;16(7):329-35.
- Krueger DA, Care MM, Holland K, Agricola K, Tudor C, Mangeshkar P, et al. Everolimus for subependymal giant-cell astrocytomas in tuberous sclerosis. *N Engl J Med.* 2010;363(19):1801-11.
- Ekici MA, Kumandas S, Per H, Ekici A, Tucer B, Gumus H, et al. Surgical timing of the subependymal giant cell astrocytoma (SEGA) with the patients of tuberous sclerosis complex. *Turk Neurosurg.* 2011;21(3):315-24.
- Sampson JR. Therapeutic targeting of mTOR in tuberous sclerosis. *Biochem Soc Trans.* 2009;37(Pt 1):259-64.
- Berhouma M. Management of subependymal giant cell tumors in tuberous sclerosis complex: the neurosurgeon's perspective. *World J Pediatr.* 2010;6(2):103-10.
- Kim SK, Wang KC, Cho BK, Jung HW, Lee YJ, Chung YS, et al. Biological behavior and tumorigenesis of subependymal giant cell astrocytomas. *J Neurooncol.* 2001;52(3):217-25.
- Sugita Y, Taguchi A, Miyagi J, Yuge T, Tomita T, Shigemori M, et al. The cystic growth of a subependymal giant-cell astrocytoma with tuberous sclerosis. *Kurume Med J.* 1992;39(2):123-8.
- Cuccia V, Zuccaro G, Sosa F, Monges J, Lubienicky F, Taratuto AL. Subependymal giant cell astrocytoma in children with tuberous sclerosis. *Childs Nerv Syst.* 2003;19(4):232-43.
- Kumar R, Singh V. Subependymal giant cell astrocytoma: a report of five cases. *Neurosurg Rev.* 2004;27(4):274-80.
- Napolioni V, Moavero R, Curatolo P. Recent advances in neurobiology of Tuberous Sclerosis Complex. *Brain Dev.* 2009;31(2):104-13.
- Young J, Povey S. The genetic basis of tuberous sclerosis. *Mol Med Today.* 1998;4(7):313-9.
- Brugarolas J, Lei K, Hurley RL, Manning BD, Reiling JH, Hafen E, et al. Regulation of mTOR function in response to hypoxia by REDD1 and the TSC1/TSC2 tumor suppressor complex. *Genes Dev.* 2004;18(23):2893-904.
- Ellisen LW. Growth control under stress: mTOR regulation through the REDD1-TSC pathway. *Cell Cycle.* 2005;4(11):1500-02.
- Bissler JJ, McCormack FX, Young LR, Elwing JM, Chuck G, Leonard JM, et al. Sirolimus for angiomyolipoma in tuberous sclerosis complex or lymphangiomyomatosis. *N Engl J Med.* 2008;358(2):140-51.
- Davies DM, Johnson SR, Tattersfield AE, Kingswood JC, Cox JA, McCartney DL, et al. Sirolimus therapy in tuberous scler-

- rosis or sporadic lymphangioliomyomatosis. *N Engl J Med*. 2008;358(2):200-3.
26. Tiberio D, Franz DN, Phillips JR. Regression of a cardiac rhabdomyoma in a patient receiving everolimus. *Pediatrics*. 2011;127(5):e1335-7.
27. Hofbauer GF, Marcollo-Pini A, Corsenca A, Kistler AD, French LE, Wüthrich RP, et al. The mTOR inhibitor rapamycin significantly improves facial angiofibroma lesions in a patient with tuberous sclerosis. *Br J Dermatol*. 2008;159(2):473-5.
28. Mutizwa MM, Berk DR, Anadkat MJ. Treatment of facial angiofibromas with topical application of oral rapamycin solution (1mg/mL(-1)) in two patients with tuberous sclerosis. *Br J Dermatol*. 2011;165(4):922-3.
29. Franz DN, Leonard J, Tudor C, Chuck G, Care M, Sethuraman G, et al. Rapamycin causes regression of astrocytomas in tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol*. 2006;59(3):490-8.
30. Koenig MK, Butler IJ, Northrup H. Regression of subependymal giant cell astrocytoma with rapamycin in tuberous sclerosis complex. *J Child Neurol*. 2008;23(10):1238-9.
31. Lam C, Bouffet E, Tabori U, Mabbott D, Taylor M, Bartels U. Rapamycin (sirolimus) in tuberous sclerosis associated pediatric central nervous system tumors. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;54(3):476-9.
32. Birca A, Mercier C, Major P. Rapamycin as an alternative to surgical treatment of subependymal giant cell astrocytomas in a patient with tuberous sclerosis complex. *J Neurosurg Pediatr*. 2010;6(4):381-4.
33. Yalon M, Ben-Sira L, Constantini S, Toren A. Regression of subependymal giant cell astrocytomas with RAD001 (Everolimus) in tuberous sclerosis complex. *Childs Nerv Syst*. 2011;27(1):179-81.
34. Erbayat-Altay E, Zeng LH, Xu L, Gutmann D, Wong M. The natural history and treatment of epilepsy in a murine model of tuberous sclerosis. *Epilepsia*. 2007;48(8):1470-6.
35. Zeng LH, Xu L, Gutmann DH, Wong M. Rapamycin prevents epilepsy in a mouse model of tuberous sclerosis complex. *Ann Neurol*. 2008;63(4):444-53.
36. Ehninger D, Han S, Shilyansky C, Zhou Y, Li W, Kwiatkowski DJ, et al. Reversal of learning deficits in a Tsc2+/- mouse model of tuberous sclerosis. *Nat Med*. 2008;14(8):843-8.
37. Tillema JM, Leach JL, Krueger DA, Franz DN. Everolimus alters white matter diffusion in tuberous sclerosis complex. *Neurology*. 2012;78(8):526-31.
38. Pascual-Castroviejo I, Pascual-Pascual SI, Velázquez-Fragua R, Viaño J, Carceller F, Hernández-Moneo JL, et al. [Subependymal giant cell astrocytoma in tuberous sclerosis complex. A presentation of eight paediatric patients]. *Neurología*. 2010;25(5):314-21.
39. Campen CJ, Porter BE. Subependymal Giant Cell Astrocytoma (SEGA) Treatment Update. *Curr Treat Options Neurol*. 2011;13(4):380-5.
40. Nawashiro H, Shinomiya N. Everolimus and giant-cell astrocytomas in tuberous sclerosis. *N Engl J Med*. 2011;364(6):576-7.

Hemofilia A adquirida: reporte de un caso y revisión de la literatura

Acquired haemophilia A: case report and literature review

► Claudia Sossa^{1,2}, Sara Jiménez^{1,3}, Ángela Peña^{1,2}, Luis Salazar^{1,2}, William Castellanos^{1,2}, Julián Gelves⁴

¹Departamento de Hematología y Unidad de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos, Fundación Oftalmológica de Santander, Clínica Carlos Ardila Lülle (FOSCAL) (Bucaramanga, Colombia).

²Facultad de Medicina, Departamento Medicina Interna, Universidad Autónoma de Bucaramanga (UNAB) (Bucaramanga, Colombia).

³Banco de Sangre Higuera Escalante, Fundación Oftalmológica de Santander, Clínica Carlos Ardila Lülle (FOSCAL) (Bucaramanga, Colombia).

⁴Departamento Medicina Interna, Universidad Industrial de Santander (UIS) (Bucaramanga, Colombia).

Resumen

La hemofilia adquirida A es una enfermedad autoinmune rara caracterizada por la presencia de autoanticuerpos contra el factor VIII de la coagulación; se manifiesta clínicamente como un síndrome hemorrágico, principalmente mucocutáneo, subcutáneo y en tejidos blandos. La etiología es idiopática en la mayoría de los casos; sin embargo, en los pacientes con patologías asociadas, las más frecuentes son enfermedades del colágeno, tumores sólidos, puerperio, tumores hematolinfoides y medicamentos. Está asociada con una morbilidad y mortalidad significativas, fundamentalmente en los pacientes de mayor edad. Describimos el caso de una mujer de 90 años, que debutó con sangrado subcutáneo severo asociado a prolongación del aPTT. En el abordaje diagnóstico, se encontró una actividad del factor VIII marcadamente disminuida y niveles de inhibidores contra el factor VIII elevados (120 BU/ml), sin antecedente previo de trastornos de la coagulación. Se inició tratamiento con corticoides y se adicionó posteriormente ciclofosfamida, logrando disminuir los títulos del inhibidor y acortar el aPTT; no obstante, la paciente falleció a las tres semanas debido a un ataque cerebro-vascular isquémico no relacionado con el tratamiento instaurado.

Palabras clave: Hemofilia adquirida A, autoanticuerpos, factor VIII, unidades Bethesda, corticosteroides, ciclofosfamida, factor VII recombinante activado.

Abstract

Acquired haemophilia A (AHA) is a very rare autoimmune disease characterized by presence of autoantibodies to circulating factor VIII; it manifests clinically as a hemorrhagic syndrome, especially with mucocutaneous, subcutaneous and soft tissues bleeding. Etiology is idiopathic in most cases; the other possible etiologies include collagen diseases, solid tumors, postpartum, hematolymphoid malignancies and drugs. Mortality depends on age, being majority of deaths in elderly people. We described a 93-years-old woman presenting with a severe subcutaneous bleeding showing a prolonged partial thromboplastin time. In the diagnostic approach we found a diminished factor VIII-activity and high inhibitor titer (120 Bethesda units/ml) without a previous history of coagulation disorders. We initiated treatment with corticosteroids and then we added cyclophosphamide to achieve a reduction in the inhibitor titers and short the aPTT, however, patient died after three weeks due to an ischemic stroke unrelated to the prescribed treatment.

Key words: Acquired haemophilia A, autoantibodies, factor VIII, Bethesda units, corticosteroids, cyclophosphamide, recombinant activated factor VII.

Introducción

La hemofilia adquirida A (HAA) es una enfermedad autoinmune poco frecuente causada por la producción súbita de un autoanticuerpo contra epítopes, que genera neutralización o aclaramiento acelerado del factor VIII plasmático en individuos sin historia previa de hemostasia anormal¹. Hace parte de las entidades que se desarrollan por la presencia de anticuerpos circulantes. La mayoría de los anticuerpos circulantes son

inhibidores específicos, que inactivan un único factor de la coagulación. Existe otro tipo de inhibidores no específicos, como los relacionados con el anticoagulante lúpico, que pueden afectar al sistema de coagulación en varios puntos².

El factor VIII es el más comúnmente afectado por anticuerpos adquiridos específicos. La mayoría de anticuerpos o inhibidores contra el factor VIII son IgG y más específicamente IgG4, los cuales no fijan el complemento³. Sin embargo, en enfermedades linfoproliferativas,

DATOS DE CONTACTO

Correspondencia: Claudia Sossa, MD, Departamento de Hematología y Unidad de Trasplante de Progenitores Hematopoyéticos, Fundación Oftalmológica de Santander, Clínica Carlos Ardila Lülle (Bucaramanga, Santander, Colombia).
Centro Médico FOSCAL, piso 9, módulo 61 (Bucaramanga, Santander). **Correo electrónico:** csossa@unab.edu.co
Fecha de recepción: 15 de junio de 2010. **Fecha de aprobación:** 1 de septiembre de 2012.

se han descrito también anticuerpos IgM e IgA contra el factor VIII⁴. Los inhibidores de la hemofilia adquirida son de tipo II, es decir, tienen una cinética compleja que no permite una inhibición completa de la actividad del factor VIII⁵.

La incidencia de la HAA varía según la serie de casos publicada. En general, la frecuencia global es de 1 caso por millón de habitantes/año (0.2 a 1.5 casos millón de habitantes/año)⁶. La frecuencia de casos aumenta con la edad, siendo en menores de 16 años alrededor de 0.045 personas/millón/año y en mayores de 85 años hasta 16.6 personas/millón/año⁷.

La edad media al diagnóstico es 74 años, y presenta una relación hombre/mujer cercana a 1:1. Hasta el 85% de los casos ocurren después de los 60 años; el otro pico de una curva bifásica lo aporta, con menos frecuencia, el grupo de edad entre 20 y 30 años, donde aparecen los casos de inhibidores relacionados con el posparto¹.

La morbimortalidad es alta, principalmente en adultos mayores, a causa del alto subdiagnóstico de la enfermedad de base subyacente, de los efectos tóxicos de la inmunosupresión y del elevado potencial para desarrollar sangrados fatales.

La hemofilia adquirida B (inhibidores contra el factor IX) es aún más rara, al igual que la enfermedad por inhibidores contra el factor V, XI e, incluso, XIII⁸. En el 50% de los casos, no se encuentra causa subyacente, especialmente en el adulto mayor, en parte, porque es más difícil investigarlos de manera intensiva e invasiva o porque la edad avanzada es un factor de riesgo adicional independiente para tener hemofilia adquirida⁹. El otro 50% se distribuye en frecuencia entre enfermedades autoinmunes, asociada a embarazo/

puerperio, neoplasias sólidas y hematolinfoides, afecciones dermatológicas y algunos medicamentos, tal como se muestra en la figura 1¹.

La HAA asociada al embarazo/puerperio (7%-21%) es una complicación rara que constituye la causa principal de hemofilia adquirida en menores de 40 años. Usualmente ocurre durante la primera gestación, en los primeros tres meses posparto y hasta un año después de este evento, pero también puede presentarse como complicación hemorrágica durante el parto¹⁰. El inhibidor que circula en el torrente sanguíneo de la madre puede afectar los niveles del factor VII del feto¹¹. A continuación se describe el caso de una mujer de 90 años con HAA.

Descripción del caso

Se trata de una mujer que ingresó al servicio de urgencias por historia de 15 días de aparición súbita y espontánea de equimosis, inicialmente en extremidades superiores, extendiéndose posteriormente a cuello, tórax anterior y extremidades inferiores. Cinco días antes del ingreso, el sangrado subcutáneo aumentó y aparecieron hematomas en miembros superiores, asociados a edema, calor y dolor intenso sobre las lesiones, sin historia de trauma o uso de anticoagulantes. Dos días previos al ingreso tuvo fiebre no cuantificada (figura 2).

Dentro de la historia se encontró constipación y dolor abdominal tipo cólico en hemiabdomen inferior desde seis meses antes, sin sangrado rectal, pérdida de peso o hematuria. Presenta de hipertensión arterial (HTA) desde hace 20 años en manejo con losartán y obesidad desde hace 40 años. Sin historia personal ni

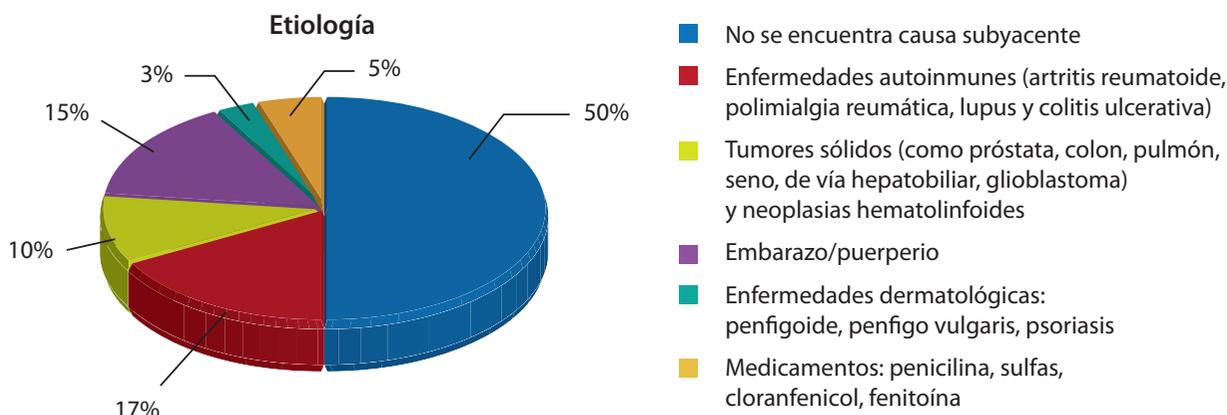


Figura 1. Etiología de la hemofilia adquirida A.

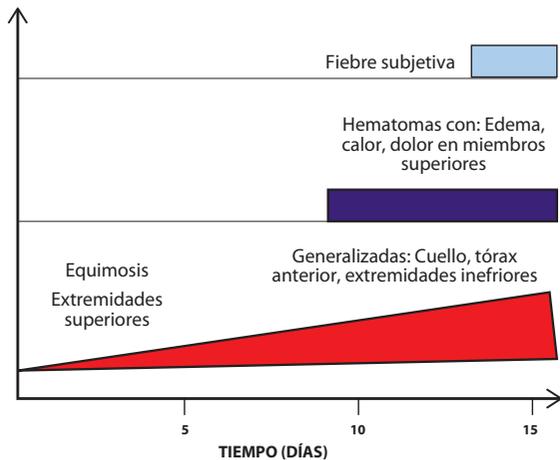


Figura 2. Presentación clínica previa al ingreso.

familiar de episodios hemorrágicos similares al actual. Negó tabaquismo o consumo de alcohol.

Al ingreso, tuvo una tensión arterial en 150/85 mm Hg, taquicardia, taquipnea, sin fiebre, peso: 90 kg, y un índice de masa corporal (IMC) de 35 kg/m². No se documentó sangrado oral ni adenomegalias, ni alteraciones en el tórax o el abdomen. Sin embargo, si se encontraron extensos hematomas en los antebrazos, equimosis en tórax anterior, cuello, miembros inferiores y abdomen (figuras 3a y 3b).

Los exámenes de laboratorio iniciales se registran en la tabla 1. Nivel de aPTT (tiempo parcial de

tromboplastina activada) prolongado más de 180 segundos, tiempo de protrombina (TP) normal. Prueba de mezclas (aPTT cruzado) sin acortamiento o corrección. Los niveles de factor VIII de la coagulación (tabla 2) fueron menores al 1%, títulos del inhibidor contra el factor VIII elevados, niveles de factores IX y XI normales, y anticoagulante lúpico negativo. Se interpretó como HAA con inhibidores específicos contra el factor VIII. Se inició tratamiento para erradicación del inhibidor contra el factor VIII con metilprednisolona 1 gramo endovenoso cada día durante tres días, seguido de prednisona 80 mg/día, previa desparasitación dual. Dos semanas después, se adicionó ciclofosfamida a 2 mg/kg/día oral a la monoterapia con corticoides. No presentó sangrado activo con riesgo para la vida que indicara manejo con agentes *bypass*.

Requirió inserción de un catéter venoso central por difícil acceso venoso periférico, utilizándose como profilaxis del sangrado tres dosis de factor VII recombinante activado (rFVIIa) (novoseven) a 7 mg (70 mcg/kg), dosis única antes del catéter venoso central, y, luego del procedimiento, se indicó 8 mg cada 2 horas por 3 dosis (90 mcg/kg/dosis). Presentó sangrado en el sitio de inserción del catéter que fue controlado con el rFVIIa. En el seguimiento del laboratorio semanal, se evidenció disminución de los títulos del inhibidor, sin mejoría en los niveles de factor VIII (tabla 3). Posteriormente, la



Figuras 3a y 3b. Hematomas extensos en miembros superiores y equimosis torácicas, de cuello y miembro inferior izquierdo.

Tabla 1. Estudios del paciente al momento del ingreso

Cuadro hemático	Hb: 9.4 g/dl	Plaquetas	322.000 mm ³
	Leucocitos: 13.500 mm ³	TP	10 segundos
Función hepática	Normal	INR	0,97
Función renal	Normal	aPTT	> 180 segundos
Uroanálisis	Bacteriuria y leucocituria, no hematuria	Dímero D	Normal
Electrolitos	Normales	Fibrinógeno	Normal

Tabla 2. Resultados de actividad de factores de la coagulación y títulos de inhibidor contra factor VIII

Estudios relacionados con la coagulación	
aPTT	> 180 seg. (VN 31-36 seg.)
Factor VIII	Alterado 0.6% (VN 50-150%)
Factor IX	Normal 61% (VN 50-150%)
Factor XI	Normal 70% (VN 50-150%)
Títulos de inhibidor contra factor VIII	120 10.5 UB/ml ¹ unidades Bethesda (valor normal: 0,6)
Anticoagulante lúpico	Negativo

VN, valor normal

Tabla 3. Resultados de la actividad del factor VIII y títulos de inhibidor contra el factor VIII durante la estancia hospitalaria de la paciente hasta su fallecimiento

Examen	Ingreso	Semana 1	Semana 2	Semana 3
aPTT	> 180 seg.	> 120 seg.	74.1 seg.	Fallece
Actividad de factor VIII	0.6%	0.5%	0.9%	
Títulos de inhibidor UB/ml¹ (unidades Bethesda)	120	68	40	

paciente fallece tres semanas posteriores al ingreso debido a un ataque cerebro-vascular isquémico.

Se realizaron estudios adicionales de laboratorio e imaginológicos para investigar la etiología subyacente de la hemofilia adquirida de la paciente, todos normales; sin documentarse tumor maligno o enfermedad autoinmune. No se efectuó estudio de médula ósea, endoscopia digestiva superior ni colonoscopia, por considerarlos procedimientos con riesgo de sangrado. Se interpretó como HAA de naturaleza idiopática.

Discusión

El paciente con HAA consulta generalmente por aparición súbita y espontánea de sangrados inusuales (diátesis hemorrágica leve a severa), sin embargo, hasta un 6% de los pacientes no presenta sangrado al momento del diagnóstico¹². Es característico que el paciente refiera el inicio de sangrado como severo, prolongado e inesperado, sin trauma previo, o durante un posoperatorio o en posparto temprano.

Las manifestaciones hemorrágicas más frecuentes son el sangrado subcutáneo, seguido por el sangrado muscular, gastrointestinal, genitourinario, y retroperitoneal. A diferencia de la hemofilia congénita, por razones

desconocidas, la hemartrosis es ocasional¹. La complicación más temida es el sangrado en sistema nervioso central, aunque es la manifestación menos frecuente de todas¹³. En el estudio EACH2, hubo 474 casos de sangrado en pacientes con HAA, de los cuales el 70% fueron severos y el 30% leves a moderados; el 77% de los sangrados fueron espontáneos, el 8.4% por trauma, el 8.2% en posquirúrgicos y el 3.6% en el posparto¹⁴.

De todos los episodios de sangrado, un 25%-33% de los casos son leves o moderados y no requieren tratamiento hemostático¹⁵. El sangrado es más severo y amenaza la vida más frecuentemente comparado con la hemofilia A congénita con inhibidores¹⁶. El riesgo de sangrado que eventualmente amenaza la vida en el paciente con HAA permanece activo mientras no se erradique el inhibidor contra el factor implicado.

Las muertes por sangrado han disminuido notablemente, con una mortalidad actual entre el 3%-20% comparado con el 40% en los años 80, gracias al desarrollo de la terapia farmacológica hemostática efectiva, su mayor disponibilidad entre los países y el mejor entendimiento de la enfermedad¹⁷.

El hallazgo típico para sospechar una hemofilia A adquirida es un aPTT prolongado, TP normal, con función y recuento plaquetario normales, sin historia de consumo de anticoagulantes o antiagregantes¹⁸. Al encontrar un aPTT prolongado, como el caso de la paciente (> 180 seg.), es necesario confirmar el resultado; después de ratificar el aPTT prolongado, se debe determinar si la prolongación es causada por la deficiencia de un factor o por la presencia de un inhibidor, para lo cual se deben realizar determinaciones del aPTT, luego de mezclar iguales volúmenes de plasma del paciente con plasma normal: si el aPTT se acorta en más del 50% de la diferencia entre los tiempos de coagulación del plasma normal y el plasma del paciente, se interpreta como deficiencia de un factor de la coagulación; si no se acorta lo suficiente (menos del 50% de la diferencia), se considera presencia de inhibidores o anticoagulantes circulantes. Subsecuentes estudios de laboratorio deben estar encaminados a evaluar la especificidad del inhibidor; si el inhibidor es específico para un solo factor de la coagulación, la actividad procoagulante del factor es neutralizada sobre el tiempo, y de esta manera, mediciones del factor de una mezcla de plasma del paciente y plasma normal a los 0, 60 y 120 minutos puede demostrar una progresiva disminución

de la actividad en el tiempo, mientras los niveles de los otros factores de coagulación permanecen estables¹⁹. Si el inhibidor es inespecífico, habrá más de un factor de la coagulación comprometido (VIII, IX, XI, XII) y, en tal caso, es necesario hacer las pruebas necesarias para establecer la presencia de un anticoagulante lúpico²⁰.

Cuantificar el inhibidor es importante para orientar el manejo de los sangrados y para evaluar la terapia a largo plazo. El inhibidor es medido en unidades Bethesda. Una unidad Bethesda se define como la dilución del plasma del paciente que neutralizará el 50% de una unidad de factor VIII agregado en dos horas a 37°C; se consideran títulos bajos aquellos menores de 5 BU/ml y títulos altos los mayores a 5 BU/ml²¹.

En nuestro caso, se determinó la actividad del factor VIII de la coagulación, encontrándose marcadamente disminuida, con títulos del inhibidor contra factor VIII en 120 BU/ml y niveles de factores IX, XI normales, anticoagulante lúpico negativo.

El tratamiento de los pacientes con HAA tiene en cuenta cinco objetivos básicos²²:

1. Control del sangrado.
2. Erradicación del inhibidor.
3. Tratamiento del trastorno subyacente.
4. Proteger al paciente contra traumas o procedimientos invasivos no esenciales. Mantener en el mínimo las venopunciones.
5. Educar al paciente en reconocimiento temprano de síntomas.

Control del sangrado: no hay evidencia de gran poder que permita soportar decisiones terapéuticas en HAA, por lo que muchas de las recomendaciones a continuación se basan en experiencia clínica de especialistas que han tratado a este tipo de pacientes⁹. Cuando los episodios hemorrágicos son severos, se requiere tratamiento hemostático temprano para reducir la morbimortalidad, independiente de los títulos de inhibidor y la actividad del factor VIII, ya que la incidencia de sangrados fatales alcanza hasta el 9% en un estudio reciente²³. La eficacia de los agentes hemostáticos *bypass* no es predecible, por lo tanto, hay que evaluar al paciente clínicamente y hacer controles seriados de hemoglobina para estimar la respuesta al tratamiento. Las indicaciones para iniciar tratamiento hemostático son sangrado activo severo, sangrado de sistema nervioso central, retroperitoneal, retrofaringeo

o musculares, prevención de hemorragia en pacientes que van a ser sometidos a cirugía o procedimientos invasivos, como en el caso de esta paciente, quien tenía indicado un catéter venoso central.

El tratamiento hemostático se lleva a cabo con dos agentes *bypass* de la coagulación, que son efectivos para lograr control de sangrado en la hemofilia adquirida, cuya función es desviar y dirigir el mecanismo de la coagulación a través de la vía extrínseca²⁴; son el tratamiento base de la hemofilia adquirida con altos títulos de inhibidor. En Colombia, se dispone de: 1) Factor VII recombinante activado (novoseven - rFVIIa): dependiendo de los estudios revisados, el tratamiento con novoseven como primera línea de tratamiento ha demostrado efectividad completa o parcial entre el 91%-95%²⁵⁻²⁷. Cuando se usa en segunda línea, es efectivo en un 80%-86% de los casos, con una mediana de duración del tratamiento de seis días (rango 1-33 días). Se usa a dosis estándar de 70-90 mcg/kg/dosis cada 2 horas en sangrado severo y 90 mcg/kg/dosis cada 3 horas en sangrado leve a moderado, hasta que se logre la hemostasia²⁸. 2) Concentrado de complejo protrombínico activado derivado del plasma (FEIBA, *factor eight inhibitor bypassing activity*)²⁹. Contiene predominantemente factores II, IX, X inactivos y VII activado, es efectivo en el 94-100% de los sangrados moderados y en el 76% de los severos^{30,31}. La mediana de tratamiento fue de cinco días (rango 2-10 días). Se usa a dosis de 50-100 U/kg cada 8 horas, pero con la precaución de no excederse de 200 U/kg en 24 horas, por el riesgo de trombosis⁹.

La decisión de escoger uno de los agentes como tratamiento dependerá de la respuesta previa del paciente, del esquema de dosis, del uso de productos derivados de plasma y del costo se debe tener en cuenta que ninguno ha demostrado ser superior al otro en HAA por ausencia de estudios. Si el agente *bypass* que se escoge falla en detener el sangrado, el otro debe ser utilizado rápidamente. El evento adverso más temido es la trombosis; se ha reportado desde el 2% a 8.6% de eventos trombóticos, los cuales han sido principalmente arteriales, entre ellos tromboembolismo pulmonar, infarto agudo de miocardio y enfermedad cerebro-vascular isquémica^{14,27}.

Otros agentes que han sido previamente utilizados de segunda línea para control del sangrado son:

- Factor VIII humano: es inadecuado usarlo, porque los inhibidores circulantes contra el factor VIII

rápidamente lo inactivan. Sin embargo, es una alternativa de segunda línea cuando los títulos de inhibidores contra el factor VIII son bajos y no se dispone de agentes *bypass*³².

- Factor VIII porcino: en la hemofilia adquirida, los títulos de inhibidores contra el factor VIII porcino son del 5% a 10% comparado con los títulos humanos; por lo tanto, el factor VIII porcino podría lograr nivel hemostático en situaciones en que el factor VIII humano es inefectivo³³; no obstante, el factor VIII porcino fue sacado del mercado en el 2004 por contaminación viral del producto.
- Desmopresina: es un análogo sintético de la vasopresina. Su efecto es aumentar los niveles de factor VIII, factor de Von Willebrand y del activador de plasminógeno tisular; además, acorta el aPTT y el tiempo de sangrado, secundariamente. Se usa en infusión, especialmente en sangrados menores (musculares o mucosos) con inhibidores menores a 5 BU/ml. La dosis estándar es 0.3 mcg/kg y la máxima de 24 mcg. Eleva entre 3-5 veces el valor basal de factor VIII, sobre todo 1 hora después de completar la infusión y con una vida media del factor VIII circulante de cerca de 2.5 horas³⁴.

Erradicación del inhibidor: tan pronto se realiza el diagnóstico de hemofilia adquirida, el paciente debe entrar en esquema de inmunosupresión, con el fin de erradicar el inhibidor^{15,35}. Las posibilidades de tratamiento incluyen corticoide solo, citotóxicos (ciclofosfamida, azatioprina, vincristina, micofenolato: mofetilo), combinación de ellos, rituximab, ciclosporina A, plasmaféresis, inmuoabsorción e inmunotolerancia al factor VIII.

El mejor esquema es el que logre llevar más pacientes a remisión completa y en el menor tiempo posible. De todos los pacientes con hemofilia adquirida, el 25% hace remisión espontánea¹³. Adicionalmente, con cualquier esquema, la tasa de recaída es del 10% a 20%. Previamente, se ha estudiado la respuesta al tratamiento inmunosupresor para erradicar el inhibidor sin mostrar diferencias significativas entre prednisolona oral sola o con ciclofosfamida^{6,36}. Sin embargo, en el estudio EACH2, al analizar 331 pacientes aleatorizados a prednisona sola vs. prednisona + ciclofosfamida oral (2-3 mg/kg/día), se evidenció favorabilidad con una mejoría en 3.25 veces para la terapia combinada. La remisión completa se logró en el 70% de los pacientes con tratamiento combinado, muy similar a la literatura previa. Mientras que la monoterapia con prednisolona

mostró remisión en solo el 48% de los casos (76% en estudios previos)³⁷ la duración de remisión sostenida y la mortalidad fueron similares.

La inmunoglobulina humana intravenosa no es útil en hemofilia adquirida como monoterapia; la tasa de respuesta es la mitad a la de los que remiten espontáneamente³⁸. El rituximab ha tomado fuerza en el manejo de hemofilia adquirida, pero los estudios no demuestran superioridad a otros esquemas. Serviría como segunda línea después de corticoide + ciclofosfamida³⁹. Algunos responden luego de fallar al tratamiento de primera línea. Cuando se ha utilizado como monoterapia, la eficacia para remisión completa es solo del 42%. En politerapia, combinado con corticoide y otros inmunosupresores, las tasas de respuesta son similares a corticoide + ciclofosfamida²¹. La ciclosporina A tiene al menos cinco reportes de casos en los que ha evidenciado que ha inducido remisión completa después de fallar la primera línea de manejo⁴⁰. La inmunotolerancia se basa en usar factor VIII en combinación con agentes inmunosupresores. El fundamento es que el factor VIII estimula a las células productoras de anticuerpos para que se dividan, momento en el cual se tornan más susceptibles a los agentes citotóxicos. Los reportes de casos han demostrado remisión completa hasta del 93%⁴¹.

Pronóstico y recaída: en promedio, recaen el 20% de todos los pacientes que lograron remisión completa antes de 7.5 meses (rango: 1 semana-14 meses)³⁷. El EACH2 mostró que, si se trataba con solo corticoide, recae el 18%; con esteroide + ciclofosfamida, el 12%; y con rituximab, el 1%, todos en un seguimiento de cuatro meses. No se conoce el total de recaídas a largo plazo y depende esencialmente de la educación del paciente para reportar síntomas de sangrado o hematomas tempranamente. Hasta un 25%-36% de los pacientes hacen remisión espontánea y erradicación de inhibidores sin tratamiento inmunosupresor, pero no es posible predecir quiénes lo harán⁴². Lo que se busca con el tratamiento inmunosupresor es mantener una respuesta sostenida (inhibidor negativo y actividad del factor VIII arriba del 50%).

En nuestro caso, se inició el tratamiento inmunosupresor con prednisona al momento del diagnóstico; posteriormente, se adicionó la ciclofosfamida, por no mejoría en los niveles del factor y sustentados en la literatura con resultados a favor de la terapia combinada.

A pesar de la disminución progresiva de los títulos de inhibidor, acortamiento moderado del aPTT y no aparición de nuevos episodios de sangrado, no logramos la erradicación del inhibidor, dado el tiempo de seguimiento muy corto. Utilizamos dosis profilácticas de rFVIIa previo a la inserción de catéter venoso central, consiguiéndose realizar el procedimiento sin complicaciones hemorrágicas. La paciente a la tercera semana sufre un ataque cerebro-vascular (ACV) isquémico y fallece. Este desenlace fatal tiene una base multifactorial condicionado por la edad avanzada, el antecedente de HTA, la postración y el tratamiento inmunosupresor; incluso, no podemos descartar que el factor VII recombinante haya contribuido a precipitar el ACV, pues se reportó

que, entre 700.000 pacientes tratados con rFVIIa, 18 sufrieron trombosis como efecto secundario, y, de estos, el 83% tenía factores de riesgo para trombosis. En el caso descrito, la paciente presentaba al menos cuatro factores de riesgo para trombosis de los mencionados: > 55 años, obesidad, HTA e inmovilización^{43,44}. Es por esto por lo que en los pacientes con edad avanzada y con factores de riesgo para trombosis debemos estar alerta cuando utilizamos agentes *bypass*, y algunos autores⁴³ recomiendan trombotoprofilaxis, principalmente en los pacientes que alcanzan niveles normales de factor VIII.

En la HAA, tanto el control del sangrado como la erradicación del inhibidor han de iniciarse tan rápido como el diagnóstico se haya confirmado.

Referencias

1. Knoebl P, Marco P, Baudo F, Collins P, Huth-Kühne A, Nemes L, et al. Demographic and clinical data in acquired hemophilia A: results from the European Acquired Haemophilia Registry (EACH2). *J Thromb Haemost*. 2012;10(4):622-31.
2. Keeling D, Mackie I, Moore GW, Greer IA, Greaves M, British Committee for Standards in Haematology. Guidelines on the investigation and management of antiphospholipid syndrome. *Br J Haematol*. 2012 Feb 8. doi: 10.1111/j.1365-2141.2012.09037.x. [Epub ahead of print].
3. Webert KE. Acquired Hemophilia A. *Semin Thromb Hemost*. 2012 Sep 1. [Epub ahead of print].
4. Franchini M, Gandini G, Di Paolantonio T, Mariani G. Acquired hemophilia A: a concise review. *Am J Hematol*. 2005;80(1):55-63.
5. Ma AD, Carrizosa D. Acquired factor VIII inhibitors: pathophysiology and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2006:432-7.
6. Collins PW. Management of acquired haemophilia A. *J Thromb Haemost*. 2011;9 Suppl 1:226-35.
7. Tufano A, Coppola A, Guida A, Cimino E, De Gregorio AM, Cerbone AM, et al. Acquired haemophilia a in the elderly: case reports. *Curr Gerontol Geriatr Res*. 2010;2010:927503.
8. Sossa C, Jiménez S. Inhibidores contra los factores de la coagulación adquiridos espontáneamente: hemofilia B adquirida. *Medunab*. 2003;6(16):36-8.
9. Huth-Kühne A, Baudo F, Collins P, Ingerslev J, Kessler CM, Lévesque H, et al. International recommendations on the diagnosis and treatment of patients with acquired hemophilia A. *Haematologica*. 2009;94(4):566-75.
10. Tengborn L, Baudo F, Huth-Kühne A, Knoebl P, Lévesque H, Marco P, et al. Pregnancy-associated acquired haemophilia A: results from the European Acquired Haemophilia (EACH2) registry. *BJOG*. 2012 Aug 20. doi: 10.1111/j.1471-0528.2012.03469.x. [Epub ahead of print].
11. Franchini M. Postpartum acquired factor VIII inhibitors. *Am J Hematol*. 2006;81(10):768-73.
12. Baudo F, Caimi T, de Cataldo F. Diagnosis and treatment of acquired haemophilia. *Haemophilia*. 2010;16(102):102-6.
13. Collins P, Baudo F, Huth-Kühne A, Ingerslev J, Kessler CM, Castellano ME, et al. Consensus recommendations for the diagnosis and treatment of acquired hemophilia A. *BMC Res Notes*. 2010;3:161.
14. Baudo F, Collins P, Huth-Kühne A, Lévesque H, Marco P, Nemes L, et al. Management of bleeding in acquired hemophilia A: results from the European Acquired Haemophilia (EACH2) Registry. *Blood*. 2012;120(1):39-46.
15. Delgado J, Jimenez-Yuste V, Hernandez-Navarro F, Villar A. Acquired haemophilia: review and meta-analysis focused on therapy and prognostic factors. *Br J Haematol*. 2003;121(1):21-35.
16. Coppola A, Favalaro EJ, Tufano A, Di Minno MN, Cerbone AM, Franchini M. Acquired inhibitors of coagulation factors: part I-acquired hemophilia A. *Semin Thromb Hemost*. 2012;38(5):433-46.
17. Aouba A, Rey G, Pavillon G, Jouglu E, Rothschild C, Torchet MF, et al. Deaths associated with acquired haemophilia in France from 2000 to 2009: multiple cause analysis for best care strategies. *Haemophilia*. 2012;18(3):339-44.
18. Franchini M, Targher G, Montagnana M, Lippi G. Laboratory, clinical and therapeutic aspects of acquired hemophilia A. *Clin Chim Acta*. 2008;395(1-2):14-8.
19. Kitchen S, McCraw A. Diagnóstico de la hemofilia y otros trastornos de la coagulación: manual de laboratorio. 2ª ed. Montreal: Federación Mundial de Hemofilia; 2010.
20. Bowyer A, Smith J, Woolley AM, Kitchen S, Hampton KK, Maclean RM, et al. The investigation of a prolonged APTT with specific clotting factor assays is unnecessary if an APTT with Actin FS is normal. *Int J Lab Hematol*. 2011;33(2):212-8.
21. Field JJ, Fenske TS, Blinder MA. Rituximab for the treatment of patients with very high-titre acquired factor VIII inhibitors refractory to conventional chemotherapy. *Haemophilia*. 2007;13(1):46-50.
22. Collins PW, Percy CL. Advances in the understanding of acquired haemophilia A: implications for clinical practice. *Br J Haematol*. 2010;148(2):183-94.
23. Collins PW, Hirsch S, Baglin TP, Dolan G, Hanley J, Makris M, et al. Acquired hemophilia A in the United Kingdom: a 2-year

- national surveillance study by the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors' Organisation. *Blood*. 2007;109(5):1870-7.
24. Hoffman M, Dargaud Y. Mechanisms and monitoring of bypassing agent therapy. *J Thromb Haemost*. 2012;10(8):1478-85.
 25. Hay CR, Negrier C, Ludlam CA. The treatment of bleeding in acquired haemophilia with recombinant factor VIIa: a multicentre study. *Thromb Haemost*. 1997;78(6):1463-7.
 26. Baudo F, de Cataldo F, Gaidano G; Italian registry of acquired haemophilia. Treatment of acquired factor VIII inhibitor with recombinant activated factor VIIa: data from the Italian registry of acquired haemophilia. *Haematologica*. 2004;89(6):759-61.
 27. Sumner MJ, Geldziler BD, Pedersen M, Seremetis S. Treatment of acquired haemophilia with recombinant activated FVII: a critical appraisal. *Haemophilia*. 2007;13(5):451-61.
 28. Abshire T, Kenet G. Recombinant factor VIIa: review of efficacy, dosing regimens and safety in patients with congenital and acquired factor VIII or IX inhibitors. *J Thromb Haemost*. 2004;2(6):899-909.
 29. Cromwell C, Aledort LM. FEIBA: a prohemostatic agent. *Semin Thromb Hemost*. 2012;38(3):265-7.
 30. Holme PA, Brosstad F, Tjønnfjord GE. Acquired haemophilia: management of bleeds and immune therapy to eradicate autoantibodies. *Haemophilia*. 2005;11(5):510-5.
 31. Holmström M, Tran HT, Holme PA. Combined treatment with APCC (FEIBA®) and tranexamic acid in patients with haemophilia A with inhibitors and in patients with acquired haemophilia A--a two-centre experience. *Haemophilia*. 2012;18(4):544-9.
 32. Kasper CK. Human factor VIII for bleeding in patients with inhibitors. *Vox Sang*. 1999;77 Suppl 1:47-8.
 33. Morrison AE, Ludlam CA, Kessler C. Use of porcine factor VIII in the treatment of patients with acquired haemophilia. *Blood*. 1993;81(6):1513-20.
 34. Franchini M, Lippi G. The use of desmopressin in acquired haemophilia A: a systematic review. *Blood Transfus*. 2011;9(4):377-82.
 35. Hay CR, Brown S, Collins PW, Keeling DM, Liesner R. The diagnosis and management of factor VIII and IX inhibitors: a guideline from the United Kingdom Haemophilia Centre Doctors Organisation. *Br J Haematol*. 2006;133(6):591-605.
 36. Green D, Rademaker AW, Briët E. A prospective, randomized trial of prednisone and cyclophosphamide in the treatment of patients with factor VIII autoantibodies. *Thromb Haemost*. 1993;70(5):753-7.
 37. Collins P, Baudo F, Knoebl P, Lévesque H, Nemes L, Pellegrini F, et al. Immunosuppression for acquired haemophilia A: results from the European Acquired Haemophilia Registry (EACH2). *Blood*. 2012;120(1):47-55.
 38. Crenier L, Ducobu J, des Grottes JM, Cerny J, Delaunoy C, Capel P. Low response to high-dose intravenous immunoglobulin in the treatment of acquired factor VIII inhibitor. *Br J Haematol*. 1996;95(4):750-3.
 39. Boles JC, Key NS, Kasthuri R, Ma AD. Single-center experience with rituximab as first-line immunosuppression for acquired haemophilia. *J Thromb Haemost*. 2011;9(7):1429-31.
 40. Pardos-Gea J, Altisent C, Parra R, Vilardell-Tarres M, Ordi-Ros J. Acquired haemophilia A. First line treatment with calcineurin inhibitors and steroid pulses: a 10-year follow-up study. *Haemophilia*. 2012;18(5):789-93.
 41. Lian EC, Villar MJ, Noy LI, Ruiz-Dayao Z. Acquired factor VIII inhibitor treated with cyclophosphamide, vincristine, and prednisone. *Am J Hematol*. 2002;69(4):294-5.
 42. Green D, Lechner K. A survey of 215 non-hemophilic patients with inhibitors to Factor VIII. *Thromb Haemost*. 1981;45(3):200-3.
 43. Katgi A, Ataca P, Kahraman S, Piskin O, Ozcan MA, Demirkan F, et al. Ischemic stroke after recombinant factor VIIa treatment in acquired haemophilia A patient. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2012;23(1):69-70.
 44. O'Connell KA, Wood JJ, Wise RP, Lozier JN, Braun MM. Thromboembolic adverse events after use of recombinant human coagulation factor VIIa. *JAMA*. 2006;295(3):293-8.

Recomendaciones para los autores

La *Revista Colombiana de Hematología y Oncología (RCHO)* es la publicación oficial de la *Asociación Colombiana de Hematología y Oncología (ACHO)*, tiene carácter trimestral y su finalidad es la expansión y difusión del conocimiento relacionado con la hematología, la oncología y otras áreas afines. La RCHO publica artículos sobre mecanismos moleculares relacionados con el desarrollo de diversas neoplasias; epidemiología del cáncer; características clínicas y tratamiento de diversos tumores y condiciones hematológicas benignas; y acciones de salud pública que permitan optimizar el control de la enfermedad a nivel local y global.

Se aceptarán para consideración manuscritos que contengan material original, entendiéndose que ni el artículo ni algunas partes de su contenido esencial, estadísticas o gráficas, hayan sido publicados o sometidos para publicación en otro medio diferente de la RCHO. No se aceptarán informes preliminares (resúmenes o carteles) presentados en reuniones científicas, ni informaciones periodísticas de reuniones programadas. Las copias de cualquier manuscrito entrarán a consideración del Comité Editorial de la revista, que asignará, después de una evaluación inicial, un par de revisores independiente, que no tendrá conocimiento del origen del manuscrito ni del nombre de los autores.

Excepcionalmente (por decisión del editor en jefe, ejecutivo o del Comité Editorial), podrán aceptarse publicaciones secundarias en el mismo idioma o en inglés, siempre y cuando cumplan ciertas condiciones que así lo justifiquen.

Los autores serán responsables de obtener el permiso para usar el texto, figuras o tablas de otras publicaciones. Los agradecimientos a las personas que presten el material deberán seguir las recomendaciones de los editores originales. De otra forma, se citarán el autor, el número de referencia y el editor. El material prestado deberá acompañarse de una carta de permiso por parte del dueño de los derechos de reproducción.

Categorías de publicación

- Editoriales: corresponden con manuscritos breves que harán referencia a temas de interés, local e internacional, realizados a solicitud del editor jefe, ejecutivo o del Comité Editorial (extensión máxima 1.000 palabras).
- Artículos originales: manuscritos que reportan resultados originales de estudios realizados en cualquiera de las áreas cubiertas por la RCHO. Se incluyen en esta categoría las revisiones sistemáticas y los metaanálisis, siempre y cuando cumplan con la rigurosidad metodológica que requiere este tipo de trabajos (idealmente seguirán el formato descrito por la colaboración Cochrane, <www.cochrane.org>) (extensión máxima 4.000 palabras, 3 figuras, 4 tablas, 1 anexo o apéndice).
- Artículos de revisión: manuscritos resultado de una consulta cuidadosa y crítica de la bibliografía existente sobre un tema, que proporcionan una actualización narrativa y específica que sugiere pautas para nuevas investigaciones (extensión máxima 5.000 palabras, 3 figuras, 3 tablas, 1 anexo o apéndice).
- Casos clínicos: consisten en la presentación de casos clínicos de interés para la práctica hematológica y oncológica rutinaria, lo que implica una contribución significativa para la toma de decisiones y el desarrollo de la investigación (extensión máxima 1.500 palabras, 3 figuras, 1 tabla).
- Investigación en hematología y oncología: manuscritos que aportan al desarrollo del conocimiento referente a la metodología de la investigación en hematología y oncología. En lo posible, se desarrollarán por solicitud del editor jefe, ejecutivo o Comité Editorial (extensión máxima 2.500 palabras, 1-2 figuras, 2 tablas).
- Imágenes en hematología y oncología: presentación sucinta e ilustrada de un tema que muestra de forma didáctica un concepto referente a una enfermedad o diagnóstico hematológico u oncológico (extensión máxima 500 palabras, 2-3 figuras en formato de alta resolución: .tif).

- Cartas al editor: las cartas comentarán el contenido de la revista o algún tema de interés común para los profesionales relacionados con la hematología, la oncología y otras áreas afines; en lo posible, serán enviadas a los correos electrónicos descritos antes de la presentación del siguiente número (extensión máxima 500 palabras).
- Artículos especiales: la revista no publicará de manera rutinaria manuscritos especiales, excepto un archivo histórico que se incluirá en cada número a consideración del editor jefe, ejecutivo o del Comité Editorial.

Sometimiento de los manuscritos

Del material, deberá enviarse el original y una copia completa en papel blanco, tamaño carta, a doble espacio, con márgenes de 2.5 cm y letra Arial 12 puntos. Las páginas de cada sección deberán estar en hojas separadas (hoja de presentación, resumen, abstract, texto, agradecimientos, referencias, tablas y figuras). El autor deberá enumerar las páginas de forma consecutiva empezando por la del título.

Dirija la correspondencia al editor jefe de la RCHO, en la Asociación Colombiana de Hematología y Oncología, localizada en la carrera 12 N° 97-80 Oficina 607, Edificio Punto Empresarial (Bogotá, Colombia) o a los correos electrónicos scho@etb.net.co o a_cardonaz@yahoo.com. El contenido debe adjuntar una copia en formato magnético (CD o memoria USB), siguiendo el formato Word 2003-2007 o Vista.

- Carta de presentación: el autor o autores deberán adjuntar una carta de presentación que aclare que el manuscrito no ha sido publicado parcial o totalmente en revistas en formato físico o digital (*e-journal*), y que es aceptado por todos los autores (firmas completas).
- Formato para sometimiento del manuscrito: incluye el título, el autor corresponsal y sus datos, la firma del resto de los autores, así como la declaración de derechos de autor. En esta se debe indicar si se presenta cualquier conflicto de interés.
- Declaración de conflicto de interés: solo se completará si el autor marcó "Sí en el formato anterior. En caso de existir un conflicto, no se comprometerá la publicación del artículo mientras se informe (cada autor deberá describir cualquier interés financiero directo o indirecto que pudiera haber afectado el desarrollo o los resultados del proyecto editorial). Si el autor o autores no tienen seguridad respecto del conflicto de interés, deberán revelar al Comité Editorial todos los detalles relacionados y la publicación de esta información estará a discreción del director jefe o ejecutivo.

Proceso de revisión

Una vez recibido el manuscrito (cumpliendo con todos los requisitos mencionados anteriormente), se le asignará un número que lo registrará en una base de datos identificando en adelante su evolución. Cada manuscrito será presentado en el Comité Editorial, donde se designará un revisor inicial que evaluará su pertinencia y relevancia, comentándola a la totalidad del grupo. En caso de ser aceptado, se dará paso a la revisión pareada externa por solicitud, excepto para los editoriales, la sección de investigación en hematología y oncología, las imágenes en hematología y oncología, y las cartas al editor. El Comité Editorial agradece que los autores sugieran en la carta de presentación al menos dos revisores potenciales, y la decisión sobre la aceptación, el rechazo y la necesidad de modificaciones se comunicarán al autor corresponsal vía correo electrónico. No se retornará ningún material de los artículos aceptados o rechazados.

Presentación de manuscritos

Esta guía está basada en los Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals, publicados en *Ann Intern Med* 1997;126(1):36-47. (Versión original actualizada en <www.icmje.org>).

según las normas del Comité Internacional de Directores de Revistas Médicas (CIDRM), en su quinta edición. Publicación original del grupo de Vancouver (1978) (<www.wame.org>).

- Idioma: se publicarán artículos en español y en inglés (en ambos casos deberán contener un resumen y el abstract).
- Hoja de presentación del manuscrito: en una página independiente se presentará el título, que debe ser conciso y descriptivo, no declarativo. Incluya los autores en el orden de aparición indicando solamente un nombre y un apellido. Si el autor solicita en la publicación más de un apellido, esto se realizará con una sola palabra, uniendo los apellidos por un guión. Incluya la filiación institucional de cada autor señalando el departamento y la institución. La filiación institucional será incluida en una nota a pie de página en cada artículo. Identifique el autor corresponsal que mantendrá la comunicación con el Comité Editorial mencionando el nombre, la dirección completa, el teléfono, un correo electrónico principal y otro alternativo. Para los artículos originales, describa de manera breve y concisa las fuentes de financiación del estudio si las hubo.
- Palabras claves: se deben incluir entre 3 y 10 palabras claves, que serán extraídas de los Descriptores en Ciencias de la Salud (DeCS) para español, y del Medical Subject Headings (MeSH) para inglés.
- Abreviaciones: excepto para las unidades de medida (medidas internacionales), las abreviaciones deben evitarse. Solo se aceptarán siglas y abreviaciones reconocidas internacionalmente. La primera vez que una abreviación aparezca deberá estar precedida del texto que explica su significado.

Contenido

Artículos originales

- Resumen: deberá figurar en una hoja aparte, en español, y con una extensión máxima de 250 palabras. Tendrá que ser estructurado, incluyendo cuatro elementos: objetivos, métodos, resultados y conclusiones, los cuales describirán en forma breve el problema incluido en el estudio, cómo fue realizado, los resultados y qué concluyen los autores a partir de estos. En paralelo, se sugiere la remisión del abstract, que deberá seguir los mismos parámetros.
- Introducción: establecerá el propósito del artículo y resumirá la base de la observación. Tendrá que citar las referencias en estricto orden de aparición y no incluirá datos o conclusiones del trabajo reportado.
- Métodos: describirá el formato utilizado para la selección de los sujetos en estudio (pacientes o animales, incluyendo controles). Mencione las características de los sujetos. Identifique los métodos, aparatos (nombre del fabricante y dirección en paréntesis) y procedimientos con suficiente detalle para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Identifique las referencias de métodos estándares, incluyendo la estrategia estadística. Describa los procedimientos nuevos o que hayan sido sustancialmente modificados, presente las razones para usarlos y evalúe sus limitaciones. Identifique con precisión todos los medicamentos, químicos y sustancias biológicas utilizadas, incluyendo los nombres genéricos, las dosis y las rutas de administración.

Describa los modelos estadísticos con suficiente detalle como para que un lector con conocimiento y acceso a los datos originales verifique los resultados reportados. Cuando sea posible, cuantifique los hallazgos y preséntelos con indicadores apropiados, describiendo los errores de medición o variabilidad (como intervalos de confianza). Evite mencionar solo los valores "P" cuando está examinando pruebas de hipótesis. Discuta la elegibilidad de los sujetos de experimentación, aporte detalles sobre la aleatorización y el cegamiento de las observaciones. Reporte las pérdidas o deserciones en los ensayos clínicos, y especifique los programas o paquetes estadísticos empleados.

- Resultados: presente los resultados en secuencia lógica, incluya cuadros estadísticos e ilustraciones. Evite repetir en el texto los datos de las tablas y enfátice o resume solo las observaciones más importantes. Use gráficas como alternativas a los cuadros estadísticos con muchas entradas y no duplique los datos.
- Discusión: resalte los aspectos nuevos e importantes del estudio y las conclusiones derivadas de este. No repita en detalle los datos u

otro material dado en la introducción o los resultados. Incluya en la discusión las implicaciones de sus hallazgos, así como las limitaciones y los aportes para futuras investigaciones. Relate las observaciones relevantes de otros estudios similares y relacione las conclusiones con los objetivos del estudio, evitando calificar o concluir a partir de lo obtenido. Intente establecer nuevas hipótesis cuando se requiera, pero menciónelas claramente como tales.

Artículos de revisión

El Comité Editorial considera conveniente que estos artículos presenten por lo menos entre 25 y 30 referencias bibliográficas. Una de las secciones del artículo deberá establecer los procedimientos involucrados para encontrar las fuentes de información (revistas, libros, documentos y otras consultas). El manuscrito debe incluir el tratamiento a fondo de un tema específico, realizando una amplia revisión bibliográfica, su análisis y los comentarios acerca de los trabajos de otros autores.

- Resumen: máximo 250 palabras, no estructurado.
- Introducción: debe establecer el propósito y fundamento de la revisión. Se recomienda incluir un párrafo independiente que describa los procedimientos para la búsqueda y los criterios de selección de la información.
- Desarrollo de tema: debe incluir un análisis crítico de la literatura y datos propios de los autores. En lo posible, se sugiere contemplar al menos dos referencias locales o regionales, obtenidas en índices internacionales, como Lilacs. El manuscrito tendrá que incluir tablas, esquemas y figuras que lo hagan ágil, ofreciendo una comprensión rápida de su contenido. El desarrollo del tema se puede estructurar en capítulos de acuerdo con la temática establecida y estos, a su vez, pueden organizarse mediante subtítulos. Tal organización debe seguir una frecuencia lógica.
- Conclusiones: se sugiere incluir algunas consideraciones para quienes toman decisiones sobre el tema.

Casos clínicos

- Resumen: de máximo 150 palabras, no estructurado.
- Introducción: debe establecer el propósito y justificación del reporte de caso.
- Descripción del caso: debe ser descriptivo, secuencial y seguir en lo posible un orden temporal.
- Discusión: explique las consideraciones éticas y precauciones tomadas para proteger la confidencialidad del paciente. Se recomienda incluir al menos 10 referencias bibliográficas.

Imágenes en hematología y oncología

Debe incluir un comentario corto que resalte la importancia del tema ilustrado, extremando la nitidez de los hallazgos reportados señalándolos con símbolos. Intente no realizar montajes ni hacer leyendas incorporadas. Estas deben presentarse en una hoja aparte y ser explicativas, para no tener que recurrir al texto.

Cartas al editor

Las cartas deberán recibirse dentro de las cuatro semanas de la publicación del artículo al que se hace referencia.

Referencias (para todas las categorías de publicación)

Las referencias deben ser escritas a doble espacio y numeradas consecutivamente como hayan sido citadas. Las referencias citadas en las leyendas de gráficas o figuras deben ser numeradas de modo que ellas estén en secuencia con las referencias citadas en el texto. El estilo de las referencias es el mismo del Index Medicus. Escriba todos los autores cuando son seis (6) o menos; cuando haya siete (7) o más, escriba los seis (6) primeros y luego "et al.". Las referencias numeradas, como comunicaciones personales, datos no publicados y manuscritos como "en preparación" o "remitido para publicación", serán aceptadas siguiendo los lineamientos internacionalmente descritos.

REVISTA COLOMBIANA DE
HEMATOLOGÍA
Y ONCOLOGÍA

www.acho.com.co



ACHO