



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL "DR. IGNACIO MORONES PRIETO"

Trabajo de investigación para obtener el diploma en la especialidad de Anatomía Patológica

DETERMINACIÓN DE LA INMUNOEXPRESIÓN DE NKX2-2 EN LOS TUMORES DE CÉLULAS PEQUEÑAS, REDONDAS Y AZULES DE LA EDAD PEDIÁTRICA.

SERGIO ALEJANDRO ALBORES COUTIÑO

DIRECTORA CLÍNICA
DRA. MARY CARMEN GUTIERREZ GIL.

DIRECTOR METODOLÓGICO
DR. HECTOR GERARDO HERNANDEZ RODRIGUEZ.

29 DE DICIEMBRE DEL 2022



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

HOSPITAL CENTRAL "DR. IGNACIO MORONES PRIETO"

Trabajo de investigación para obtener el diploma en la especialidad de Anatomía Patológica

Determinación de la inmunoexpresión de NKX2.2 en los tumores de células pequeñas, redondas y azules de la edad pediátrica.

Sergio Alejandro Albores Coutiño

No. de CVU del CONACYT: 1196309

Identificador de ORCID: 0000-002-3827-2250

DIRECTOR CLÍNICO

Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil

No. de CVU del CONACYT: 319150

Identificador de ORCID: 0000-0002-1694-7309

DIRECTOR METODOLÓGICO

Dr. Héctor Gerardo Hernández Rodríguez

No. de CVU del CONACYT:

Identificador de ORCID: 0000-0001-8285-383X



Determinación de la inmunoexpresión de NKX2.2 en los tumores de células pequeñas, redondas y azules de la edad pediátrica. por Sergio Alejandro Albores Coutiño se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/).

RESUMEN

Introducción: Los tumores de células pequeñas, redondas y azules son las segundas neoplasias malignas más frecuentes en la edad pediátrica, con un comportamiento clínico agresivo. Como resultado de las similitudes histopatológicas e inmunohistoquímicas que estos tumores presentan, pueden establecer desafíos en su diagnóstico, creando un impacto pronóstico y terapéutico importante para su correcta interpretación. El anticuerpo NKX2.2 es un factor de transcripción, que puede llegar a presentar anomalías en los genes NKX que se han asociado con diferentes tipos de cáncer; ya que puede actuar como supresor de tumores; o bien participar como oncogén dependiendo del subtipo de cáncer, por lo tanto, la inmunexpresión focal, o débil, no descarta su participación en otros tumores de células pequeñas, redondas y azules con características clínico-patológicas similares. **Objetivo principal:** Evaluar la inmunexpresión del anticuerpo NKX 2.2 en los tumores de células pequeñas, redondas y azules; en la población pediátrica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”. **Diseño de estudio:** Descriptivo transversal. **Variable dependiente:** Inmunexpresión positiva de NKX2.2 en los tumores de células pequeñas, redondas y azules. **Variable independiente:** Diagnóstico de tumor de células pequeñas, redondas y azules. **Variables de control:** Edad y sexo. **Muestra:** Bloques de parafina con diagnóstico histopatológico y por inmunohistoquímica de retinoblastoma, hepatoblastoma, nefroblastoma, neuroblastoma, rhabdomyosarcoma, osteosarcoma, sarcoma de Ewing, leucemia linfoblástica B y T. **Análisis estadístico:** Se calcularon medidas de tendencia central y de dispersión para cada una de las variables involucradas. **Resultados:** Se presentó inmunexpresión positiva en un ependimoma, un nefroblastoma, un neuroblastoma, dos retinoblastomas, dos osteosarcomas y seis sarcomas de Ewing. Estos resultados dieron un valor estadístico significativo obteniendo una $P=0.00000001$. **Conclusiones:** Se demostró heterogeneidad en la inmunexpresión del anticuerpo NKX2.2 en los diversos tumores de células pequeñas, redondas y azules de la edad pediátrica **Palabras clave:** NKX2.2, tumores de células pequeñas, redondas y azules, pediatría.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN.....	4
ÍNDICE.....	5
LISTA DE CUADROS	6
LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE GRAFICOS	8
LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOS	9
DEDICATORIAS.....	10
RECONOCIMIENTOS.....	11
ANTECEDENTES.....	12
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	23
JUSTIFICACIÓN.....	24
HIPÓTESIS.....	25
OBJETIVOS.....	25
SUJETOS Y METODOS.....	26
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	29
ÉTICA.....	30
RESULTADOS	36
DISCUSIÓN.....	43
INVESTIGACIONES Y/O NUEVAS INVESTIGACIONES.....	47
CONCLUSIONES.....	48
BIBLIOGRAFÍA.....	49
ANEXO 1 CARTA DE APROBACIÓN POR EL COMITE DE ÉTICA.....	54
ANEXO 2 SOLICITUD DE SOMETIMIENTO DE PROTOCOLO.....	55
ANEXO 3 CURRICULUM DE INVESTIGADOR PRINCIPAL.....	56
ANEXO 4 CARTA COMPROMISO DE CONFIDENCIALIDAD.....	59
ANEXO 5 CARTA DE NO CONFLICTO DE INTERES.....	60
ANEXO 6 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	61
ANEXO 7 HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	63
ANEXO 8 CARTA DE CONOCIMIENTO DEL ANTICUERPO NKX2.	64
ANEXO 9 TECNICA Y FICHA TECNICA DE ANTICUERPO NKX2.2.....	65

LISTA DE CUADROS

CUADRO 1. CLASIFICACIÓN DE TCPRA.....	16
CUADRO 2.TCPRA.....	18
CUADRO 3. VARIABLES.....	28
CUADRO 4. CARACTERISTICAS CLINICAS DE LOS TCPRA.....	37
CUADRO 5. FRECUENCIA DE INMUNOEXPRESIÓN DE NKX2.2.....	39
CUADRO 6. COMPARACION DE SARCOMAS DE EWING CON OTROS TCPRA.....	42
CUADRO 7 COMPARACIÓN DE ESTUDIOS PREVIOS DE NKX2.2 Y TCPRA.....	46

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. TASA DE DEFUNCIONES POR TUMORES MALIGNOS.....	13
FIGURA 2. DISTRIBUCIÓN DE CANCER PEDIATRICO Y TUMORES SOLIDO.....	14
FIGURA 3. INMUNOEXPRESIÓN POSITIVA DE NKX2.2 EN DIFERENTES NEOPLASIAS PEDIATRICAS.....	40

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1. REGISTRO NACIONAL DE CANCER EN NIÑOS.....	15
GRÁFICO 2. TOTAL DE TCPRA.....	36
GRÁFICO 3. FRECUENCIA DE INMUNOEXPRESIÓN POSITIVA.....	38
GRÁFICO 4. FRECUENCIA DE INMUNOEXPRESIÓN NEGATIVA.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS Y SIMBOLOS

TCPRA: Tumor de células pequeñas, redondas y azules.

OMS: Organización mundial de la salud.

DEDICATORIA

Este trabajo va dedicado a mis padres que han sido mi mayor inspiración en la vida, dándoles gracias por su apoyo incondicional en cada etapa de mi realización. Gracias a mi pareja por su paciencia, amor y apoyo en cada proyecto de mi vida.

RECONOCIMIENTOS

Agradecimientos a mis maestros de la especialidad por sus enseñanzas y apoyo en mi formación.

Agradecimiento muy especial a mi asesora de tesis, la Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil y el Dr. Héctor Gerardo Hernández, por sus enseñanzas y el apoyo brindado para poder realizar este trabajo de investigación, gracias por todo.

ANTECEDENTES

Una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en la infancia y adolescencia en el mundo es el cáncer; de acuerdo con las estimaciones hechas por El Observatorio de Cáncer Global (Globocan) 2018, plataforma que pertenece a la Agencia Internacional para la Investigación de Cáncer de la OMS, reporta que anualmente se diagnostican aproximadamente 18 millones de casos nuevos de cáncer en todo el mundo de los cuales, más de 200,000 ocurren en niños y adolescentes, así mismo; muestra que las leucemias son las neoplasias más frecuentes en ambos sexos entre cero y 19 años; seguidas de tumores en sistema nervioso central y linfoma no Hodgkin ⁽¹⁾. En países con desarrollo económico alto la sobrevivencia es mayor al 80%, no obstante; en países en vías de desarrollo apenas alcanza un 20%; como causas principales de estos resultados son: la incapacidad para tener un diagnóstico preciso y oportuno, poco o nulo acceso a los tratamientos, abandono del tratamiento, defunciones por toxicidad y exceso de recidivas, entre otras ⁽²⁻³⁾. Por otra parte, de acuerdo con lo informado por el Registro de Cáncer en Niños y Adolescentes (RCNA) en nuestro país; la sobrevivencia de los niños y adolescentes es de 57% ⁽⁴⁾.

La presentación de tumores del sistema nervioso simpático, origen renal, hepático y retinoblastomas predominan entre el primer y cuarto año de vida; mientras que entre los 10 a 19 años las leucemias y otros tipos son similares a los de edad adulta sin embargo estos suelen ser más agresivos y el tratamiento propicia un mayor riesgo de infección e inmunosupresión que aumenta la mortalidad ⁽¹⁾.

De acuerdo con lo reportado por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) en 2020; los principales tipos de cáncer que afectaron a la población de cero a 14 años fueron: leucemia; tumor maligno de las meninges, del encéfalo y de otras partes del sistema nervioso central; tumor maligno del hígado y de las vías biliares intrahepáticas, así como de linfoma no Hodgkin; después los grupos etáreos de 10 a 14 años; 5 a 9; 15 a 18, y el de cero a 12 meses, con predominio del sexo masculino ⁽⁵⁾.

TASA DE DEFUNCIONES POR CAUSAS DE TUMOR MALIGNO POR GRUPOS DE EDAD Y SEXO, 2020
(Defunciones por cada 10 mil habitantes)

Causa de muerte de tumores malignos en hombres		Causa de muerte de tumores malignos en mujeres	
De 0 a 14 años	0.47	De 0 a 14 años	0.37
Leucemia	0.24	Leucemia	0.19
Tumor maligno de las meninges, del encéfalo y de otras partes del sistema nervioso central	0.08	Tumor maligno de las meninges, del encéfalo y de otras partes del sistema nervioso central	0.06
Tumor maligno del hígado y de las vías biliares intrahepáticas	0.02	Tumor maligno del hígado y de las vías biliares intrahepáticas	0.01
Linfoma no Hodgkin	0.02	Linfoma no Hodgkin	0.01
De 15 a 29 años	1.13	De 15 a 29 años	0.74
Leucemia	0.36	Leucemia	0.25
Tumor maligno de las meninges, del encéfalo y de otras partes del sistema nervioso central	0.06	Tumor maligno del ovario	0.06
Linfoma no Hodgkin	0.06	Tumor maligno del cuello del útero	0.06
Tumor maligno del estómago	0.04	Tumor maligno de las meninges, del encéfalo y de otras partes del sistema nervioso central	0.05
De 30 a 59 años	4.42	De 30 a 59 años	6.46
Tumor maligno del colon, del recto y del ano	0.55	Tumor maligno de la mama	1.56
Tumor maligno del estómago	0.47	Tumor maligno del cuello del útero	0.86
Tumor maligno de la tráquea, de los bronquios y del pulmón	0.32	Tumor maligno del ovario	0.54
Leucemia	0.31	Tumor maligno del estómago	0.43
60 y más años	45.35	60 y más años	34.61
Tumor maligno de la próstata	10.89	Tumor maligno de la mama	4.71
Tumor maligno de la tráquea, de los bronquios y del pulmón	4.79	Tumor maligno del hígado y de las vías biliares intrahepáticas	3.34
Tumor maligno del colon, del recto y del ano	3.95	Tumor maligno del colon, del recto y del ano	2.82
Tumor maligno del hígado y de las vías biliares intrahepáticas	3.81	Tumor maligno del estómago	2.57

Nota: Comprende el total de registros con códigos de causa básica de tumores malignos (C00-C96) según la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud, Décima Revisión. (CIE-10).

Fuentes: INEGI. Estadísticas de mortalidad 2020. Consulta interactiva de datos. SNIEG. Información de Interés Nacional y Estimación de población elaborada por el INEGI con base en el Marco de Muestreo de Viviendas 2020.

Figura 1. Tasa de defunciones por causas de tumor maligno por grupos de edad y sexo INEGI 2020

TUMORES DE CÉLULAS PEQUEÑAS, REDONDAS Y AZULES.

Los tumores de células pequeñas, redondas y azules en etapa pediátrica constituyen un grupo diverso de neoplasias de difícil diagnóstico, pues histológicamente se determinan como su nombre lo indica por tener características histomorfológicas similares; con aumento de la relación núcleo citoplasma, definido por algunos autores como más de dos veces del tamaño de un eritrocito e hiper cromatismo y provenientes de células indiferenciadas ^(6,7). Aunque la edad de presentación principal es en niños y adultos jóvenes, algunos tumores con estas mismas características morfológicas pueden presentarse en adultos, por lo cual es posible encontrarlo desde la infancia hasta la vida adulta ⁽⁸⁾.

En la edad pediátrica estos tipos de tumores son las segundas neoplasias malignas más frecuentes, además su incidencia va en aumento a nivel mundial ⁽⁹⁾, constituyendo entre el 20 al 40% de las neoplasias sólidas. ⁽¹⁰⁾.

Dentro de este grupo se encuentran una amplia variedad de tumores que incluyen leucemias, tumores sólidos pediátricos, blastomas (entre los que se pueden mencionar tumor de Wilms, hepatoblastoma, retinoblastoma, neuroblastomas y meduloblastomas), melanoma de células pequeñas, tumores de origen neuroendocrino, carcinomas ⁽¹¹⁻¹²⁾. Las semejanzas histopatológicas, perfil de inmunohistoquímica y moleculares que estas neoplasias presentan, pueden crear desafíos diagnósticos, con un importante impacto pronóstico, así como terapéutico en su interpretación.

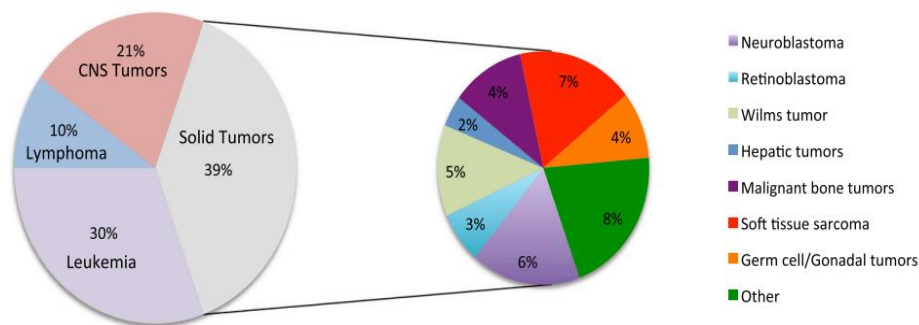


Figura 2. Porcentaje de distribución de cáncer pediátrico y tumores sólidos.

De acuerdo con la *International Classification of Childhood Cancer (ICCC)* la distribución de casos reportados al RCNA correspondió en primer lugar a las Leucemias 949 (49.37%), en segundo lugar, los tumores del Sistema Nervioso Central 199 (10.35%) y en tercer lugar los linfomas 173 (9%) ⁽⁴⁾.

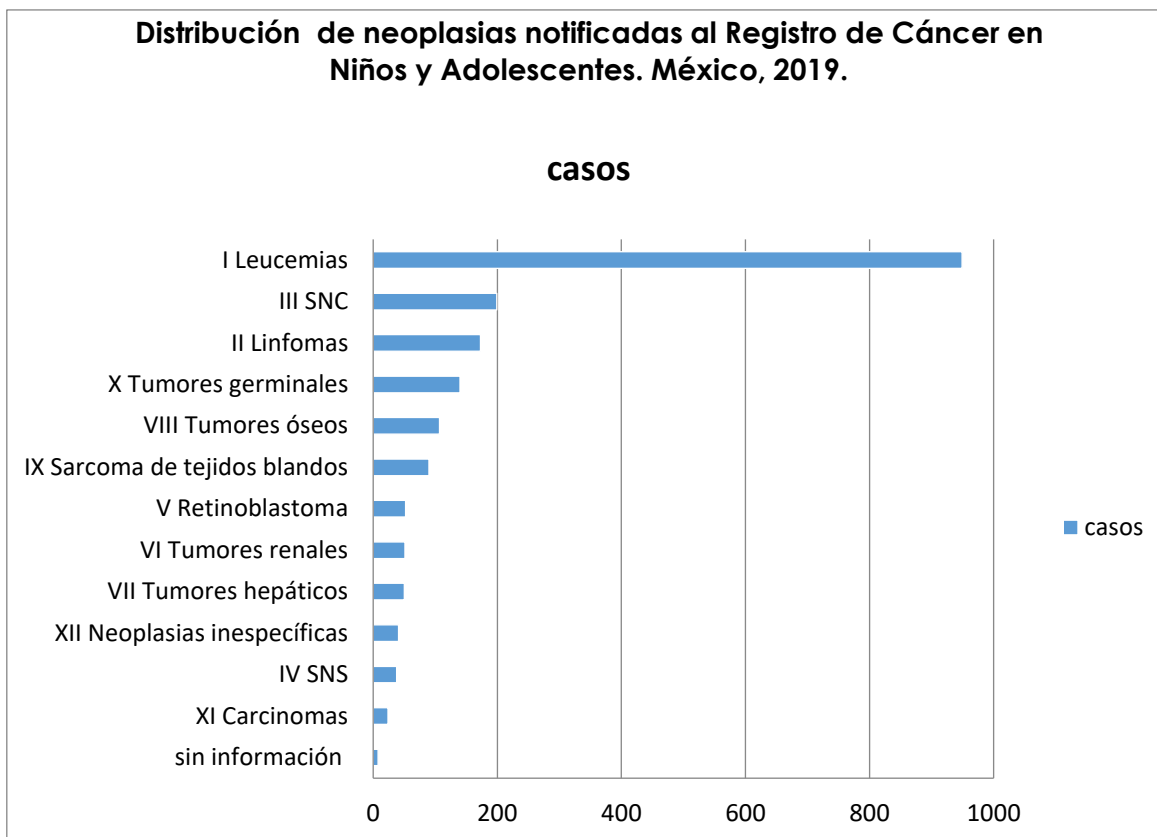


Gráfico 1: Registro Nacional de Cáncer en Niños y Adolescentes. México 2019.
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/632369/RNCA_2019.pdf

CLASIFICACIÓN DE LOS TUMORES DE CELULAS PEQUEÑAS, REONDAS Y AZULES.

El término referente a tumores de células pequeñas, redondas, pequeñas y azules (TCPRA) describe un grupo de tumores con un patrón histológico característico; sin embargo, por la complejidad de esta entidad existen diversas clasificaciones que intentan englobar las similitudes que lo constituyen a cada neoplasia ya sea de acuerdo a su patrón, tamaño celular o bien su origen; con estos antecedentes se hace referencia a lo descrito por Sharma y cols. ⁽¹³⁾ quienes catalogaron los TCPRA de acuerdo con las siguientes características como se puede observar en el siguiente cuadro:

Clasificación de tumores de células pequeñas redondas y azules.

Patrón de células redondas	<p>Difuso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma de Ewing. • PNET • Carcinoma de células de Merkel • Rabdomiosarcoma embrional. • Carcinoma de células pequeñas • Linfoma • Infiltrado leucémico. <p>Lobulado/septado.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma de Ewing • Rabdomiosarcoma alveolar. <p>Alveolar/pseudoalveolar.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Patrón focal; pobre cohesión • Rabdomiosarcoma alveolar • PNET <p>Con rosetas.</p> <p><i>Flexner.</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Neuroblastoma. • PNET <p><i>Homer Wright:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Neuroblastoma. <p>Patrón vascular hemangiopericitomatoso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma sinovial pobremente diferenciado. (SSPD) <p>Con otros componentes:</p> <p>Pseudoglandular: Sarcoma Sinovial Pobremente Diferenciado.</p> <p>Cartílago: Condrosarcoma mesenquimal.</p>
Tamaño de las células	<p>Células redondas y pequeñas.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Carcinoma de células pequeñas. • Sarcoma de Ewing/PNET. • Melanoma.

	<ul style="list-style-type: none"> • Rbdomiosarcoma. • Enfermedad de células de Langerhans. • Adenocarcinoma. • Carcinoma neuroendocrino. • Carcinoma de células de Merkel. • Neuroblastoma olfatorio. <p>Células redondas grandes.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Carcinoma de células escamosas. • Adenocarcinoma. • Melanoma. • Rbdomiosarcoma. • Neoplasias linfoides. • Paraganglioma.
<p>Base de origen</p>	<p>Neurogénico.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma de Ewing/PNET. • Neuroblastoma. • Retinoblastoma. • Meduloblastoma. • Tumor de células de Merkel. • Paragangliomas. • Carcinomas de células pequeñas de pulmón. <p>Mesenquimal.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mesenquimal. <ul style="list-style-type: none"> ○ miogénico • Osteoide. • Condroide. • Adiposo. <p>Hematolinfoide</p> <ul style="list-style-type: none"> • Linfoma <p>Tumores de células origen incierto:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tumor de células pequeñas y redondas desmoplásico. • Sarcoma sinovial pobremente diferenciado.

Cuadro 1. Adaptado de Sharma, et al.: *Round cell tumors; Classification and immunohistochemistry.* Indian J Med Paediatric Oncol 2017; 38:349-53

Por otra parte; mientras que Sharma y cols, realizaron una clasificación de las neoplasias de células pequeñas, redondas y azules; la Organización Mundial de la Salud (OMS) ⁽⁷⁾ en su quinta edición de tumores de tejidos blandos y óseos, hizo modificaciones específicamente en relación al área de sarcomas de la infancia con base en la biología genética y molecular; señalando las siguientes entidades: Sarcoma de Ewing, sarcoma de células redondas con fusiones EWSR1-no ETS, sarcoma con reorganización CIC, sarcoma con alteración genética en BCOR, osteosarcoma de células pequeñas, entre otros.

Así mismo Hung Y, Fletcher C, & Hornick J ⁽¹⁴⁾ representaron en un cuadro (Cuadro 2) las neoplasias malignas en edad pediátrica que se caracterizan por una presentación clinicopatológica, sobreposición de hallazgos citohistomorfológicos de células indiferenciadas y que a menudo son indistinguibles entre sí y más si se presentan en un contexto clínico inusual.

Tumores de células pequeñas, redondas y azules.	
Sarcoma de Ewing	
Tumores de células pequeñas redondas y azules no Ewing.	
Sarcoma de células redondas NOS	
Sarcoma <i>CIC-DUX4</i>	
Sarcoma <i>BCOR-CCNB3</i>	
Linfoma linfoblástico	<ul style="list-style-type: none"> • LLA-T • LLA-B
Linfoma de Burkitt	
Linfoma de Hodgkin clásico	
Linfoma de Hodgkin de predominio linfocítico nodular	
Rabdomiosarcoma	<ul style="list-style-type: none"> • Embrional • Alveolar • Células fusiformes/ esclerosante • NOS
Neuroblastoma	<ul style="list-style-type: none"> • Indiferenciado • Pobremente diferenciado • Diferenciado • Ganglioneuroblastoma nodular

	<ul style="list-style-type: none"> • Ganglioblastoma mixto • NOS
Tumor de Wilms	
Carcinoma de células pequeñas	
Carcinoma de la línea media NUT	
Carcinoma de células de Merkel.	
Melanoma	
Sarcoma sinovial pobremente diferenciado	
Neuroblastoma olfatorio	
Condrosarcoma mesenquimal	
Otros tumores asociados a <i>EWSR1</i>	
Tumor desmoplásico de células pequeñas y redondas	
Carcinoma mioepitelial	
Mioepitelioma cutáneo y de partes blandas	
Condrosarcoma mixoide extra esquelético	

Cuadro 2. Adaptado de: Hung Y, Fletcher C, Hornick J. *Evaluation of NKX2-2 expression in round cell sarcomas and other tumors with EWSR1 rearrangement: imperfect specificity for Ewing sarcoma.* Modern Pathology [Internet]. 2016

Como se ha observado a través de lo mencionado anteriormente; los diagnósticos diferenciales en este grupo de tumores es muy amplio, y aunque se cuenta con un panel de anticuerpos, ningún anticuerpo por sí mismo tiene la utilidad clínica para diferenciar las imprecisiones para su interpretación que existen en los tumores de células pequeñas, redondas y azules, dando como resultado un gran impacto en su implicación pronóstica y terapéutica, pues es distinto el manejo de cada tumor, a pesar de que la patología molecular es más certera en ciertos casos, el uso de la técnica de inmunohistoquímica sigue siendo una alternativa útil, factible y más accesible para el estudio del paciente pediátrico en nuestro hospital.

FAMILIA DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN NKX.

El gen homeobox NKX2.2 pertenece a la familia de factores de transcripción que incluyen NKX2.1, NKX2.2, NKX2.3 en bazo, NKX2.4, NKX2.5 en el corazón, NKX2.6 Y NKX2.8 con distribuciones específicas en cada tejido ⁽¹⁵⁾.

Fue descrito por primera vez específicamente en el sistema nervioso central; por Briscoe y cols.⁽¹⁶⁾ , específicamente en las células gliales; actúa de manera normal como un factor de transcripción nuclear; estableciendo su papel principalmente en el desarrollo temprano del tubo neural ;específicamente en la diferenciación de los oligodendrocitos y de igual manera se ha reportado su participación en el desarrollo de células neuroendocrinas en el tracto gastrointestinal y pancreático; aunque su relación con el cáncer no fue descrita sino hasta el 2006 cuando se estudió su contribución en la transformación oncogénica en el sarcoma de Ewing, con una alta tasa de sensibilidad y moderada especificidad siendo positivo en otros imitadores histopatológicos; actuando como un objetivo en la desregulación del gen *EWSRA-FLI* a través de la represión de la transcripción ⁽¹⁷⁾ ; por el contrario su disminución en la regulación se correlaciona con un mayor grado de malignidad tumoral en el glioblastoma. Por otra parte, Huiming Chen y cols. (2018) informaron por primera vez la participación de NKX2.2 en el osteosarcoma en el cual suprime las metástasis y la proliferación mediante la regulación de múltiples genes diana; aunque el total proceso de este mecanismo aún es desconocido. ⁽¹⁸⁾

Las anomalías presentes en los genes NKX se han asociado con diferentes tipos de cáncer; su actuación puede ser como supresor de tumores; participando como oncogén dependiendo del subtipo de cáncer de pulmón ⁽¹⁹⁾; o bien interactuar con otros genes como NKX3.1 el cual es un gen que participa como gen supresor en el cáncer de próstata, no obstante se ha contemplado su participación en las células leucémicas en las que la expresión de NKX2.2 no depende de la vía NOTCH y su inactivación afecta la proliferación celular; ha sido propuesto recientemente por Yoshida et al. (2020) como marcador único del condrosarcoma mesenquimal y del sarcoma EWSR1-NFATC2. ⁽²⁰⁾

EXPRESIÓN DE NKX2.2 EN TUMORES DE CELULAS PEQUEÑAS, REDONDAS Y AZULES.

La expresión del anticuerpo NKX2.2 por inmunohistoquímica se ha convertido en una herramienta útil para el diagnóstico de Sarcoma de Ewing, pues la mayoría de los casos han demostrado una inmunoexpresión nuclear y difusa; reportándose hasta un 93% de sensibilidad de acuerdo con lo reportado por Hung y cols.; no obstante existen varios estudios comparativos ^(8,9,14) tanto en la morfología como por localización en los cuales se ha confrontado su utilidad con otro tipo de tumores de células pequeñas y redondas existiendo una gran versatilidad en su expresión ya sea de manera focal, débil, o en parches; por ejemplo; en los neuroblastomas olfatorios (con una variabilidad del 26 al 80%) o la inmunoexpresión en el 75% de los condrosarcomas mesenquimales ^(8,21,22,) y tumores neuroendocrinos que va de un 0 a 100% de acuerdo con la topografía y grado de diferenciación histológica. ⁽²³⁾

Por otra parte la participación de NKX2.2 en los desórdenes linfoproliferativos también se ha hecho presente, prueba de ello es lo reportado en la literatura por Nagel et al. ⁽²⁴⁾ al expresarse en el linfoma Hodgkin y en la leucemia aguda con inmunofenotipo T (LLA-T), aunque solamente ha sido informada en el 1% de los pacientes pediátricos; este fenómeno ha sido asociado a un rearrreglo cromosomal t(14:20) (q11;p11) en el cual se presenta una yuxtaposición en los locus de los receptores de las células T, interpretando estos hallazgos como la existencia de un gen de subclase presente en este tipo de neoplasias; así mismo su presencia en el linfoma de Hodgkin, es probable que se deba a una activación cromosomal que se presenta en el 12% de los casos y se asocia a la expresión de TLX1 en el adulto; por esta razón el comportamiento de NKX2.2 ante estos grupos de neoplasias sigue en investigación para conocer su contribución en la leucemogénesis/linfomagénesis por desregulación en los procesos de desarrollo principalmente en el LH clásico y en pacientes con linfoma Hodgkin de predominio linfocítico nodular.

A parte de la participación de NKX2.2 en los desórdenes linfoproliferativos anteriormente mencionados; se ha reportado la expresión de NKX2.1, NKX2.3 y NKX6.3 en linfoma B difuso de células grandes; en las cuales se ha informado expresión nuclear, focal, débil y ocasionalmente se ha expresado en forma citoplásmica, lo cual abriría un campo para determinar si solo es una expresión aberrante del anticuerpo o es de esperar una nueva forma de inmunoexpresión.

En suma, es preciso destacar la heterogeneidad de los resultados obtenidos por cada uno de los autores con relación a la expresión de NKX2.2 en las múltiples entidades nosológicas englobadas dentro del grupo de tumores de células pequeñas, redondas y azules; por lo cual es imprescindible evaluar su utilidad diagnóstica para distinguir las diferentes entidades que conforman dicho grupo a través de la técnica de inmunohistoquímica; método accesible en nuestro hospital y de uso rutinario para este tipo de neoplasias.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los tumores de células pequeñas redondas y azules de la edad pediátrica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” que tienen expresión positiva al anticuerpo NKX2-2 por inmunohistoquímica?

JUSTIFICACIÓN

Los tumores de células pequeñas, redondas y azules son neoplasias muy agresivas, siendo en la edad pediátrica las segundas neoplasias malignas más frecuentes. Como resultado de las similitudes histopatológicas, inmunohistoquímica y moleculares que estos tumores presentan, pueden crear desafíos en su interpretación diagnóstica para el patólogo, con un importante impacto pronóstico, así como terapéutico para el clínico.

El anticuerpo NKX2.2 forma parte de un panel de rutina específico en la detección de cáncer en niños, especialmente en el sarcoma de Ewing, siendo sensible hasta en un 93% al expresarse de manera difusa; no obstante, su inmunoeexpresión focal, o débil, no descarta su participación en otras entidades pediátricas, con características clínico-patológicas similares, las cuales pueden llevar a un diagnóstico erróneo al interpretar el patrón y sitio de inmunoeexpresión del anticuerpo.

Conocer la frecuencia de inmunoeexpresión en otras entidades, nos ayudará a tener un campo más amplio de posibilidades diagnósticas que no solo vayan dirigidas a Sarcoma de Ewing como primer diagnóstico, y otorgar la posibilidad de ser necesario ampliar un panel para llegar a un diagnóstico certero; con el apoyo de una correlación clinicopatológica para tratar de establecer un tratamiento y pronóstico eficaz.

A pesar de que la patología molecular es más certera en ciertos casos, el uso de la técnica de inmunohistoquímica sigue siendo una alternativa útil, factible y más accesible debido a su costo en comparación con otros medios diagnósticos para el estudio del paciente pediátrico en nuestro hospital.

Merece la pena subrayar que, aunque el programa de cáncer en niños es un programa prioritario en nuestro país, actualmente no existen estudios en México en el cual se evalúe la expresión de NKX2.2 en los tumores de células pequeñas, redondas y azules, de acuerdo con la literatura analizada.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la inmunexpresión del anticuerpo NKX 2.2 en los tumores de células pequeñas, redondas y azules; de la población pediátrica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

- Conocer la frecuencia de presentación de tumores de células pequeñas, redondas y azules por edad y género en edad pediátrica en el hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.

HIPOTESIS

Los tumores de células pequeñas redondas y azules en población pediátrica presentan inmunexpresión positiva a NKX2.2.

DISEÑO DE ESTUDIO

- Descriptivo transversal.

METODOLOGÍA

LUGAR DE REALIZACIÓN

Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, en San Luis Potosí, San Luis Potosí.

UNIVERSO DE ESTUDIO

Bloques de parafina con diagnóstico histopatológico y por inmunohistoquímica de rhabdomyosarcoma, sarcoma de Ewing, meduloblastoma, retinoblastoma, hepatoblastoma, nefroblastoma, neuroblastoma, leucemia linfoblástica B y leucemia linfoblástica T, que se hayan encontrado en el archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” durante el período de 1° de enero de 2015 al 31 de diciembre del 2021.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

INCLUSIÓN

- Todos los bloques de parafina con diagnóstico histopatológico y por inmunohistoquímica de rhabdomyosarcoma, sarcoma de Ewing, meduloblastoma, ependimoma, retinoblastoma, hepatoblastoma, osteosarcoma, nefroblastoma, neuroblastoma, leucemia linfoblástica B y leucemia linfoblástica T el 1 enero de 2015 al 31 de diciembre del 2021; disponibles en el archivo del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”.
- Bloques de parafina que pertenecieran a pacientes con edad de 0 a 18 años.

EXCLUSIÓN

- Pacientes mayores de 19 años.
- Bloques de parafina con diagnóstico final e inmunohistoquímico de linfomas, carcinomas, melanomas, carcinoma de células pequeñas, condrosarcomas y sarcomas sinoviales.

ELIMINACIÓN

- Bloques de parafina con diagnóstico histopatológico de tumor de células pequeñas, redondas y azules que se encontraron en malas condiciones para efectuar el proceso de inmunohistoquímica.
- Bloques de parafina con diagnóstico histopatológico de tumor de células redondas y pequeñas con material insuficiente.
- Se eliminaron aquellos casos de inmunohistoquímica en los cuales los controles estén negativos para su interpretación.

VARIABLES DE ESTUDIO

VARIABLE DEPENDIENTE

- Inmunoexpresión positiva del anticuerpo NKX 2.2 en los tumores de células pequeñas, redondas y azules.

VARIABLE INDEPENDIENTE

- Diagnóstico de tumores de células pequeñas, redondas y azules en edad pediátrica.

VARIABLES DE CONTROL

- Edad
- Sexo

Cuadro 3. Variables				
Dependiente				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Inmunoexpresión positiva de NKX 2.2 en los tumores de células pequeñas, redondas y azules.	Factor de transcripción expresado en el núcleo de las células neoplásicas de los tumores de células, redondas, pequeñas y azules.	Positivo >5% Negativo <4%	N/A	Dicotómico
Independiente				
Diagnóstico de tumor de células pequeñas, redondas y azules.	Células caracterizadas histopatológicamente por ser pequeñas, redondas, azules, con aumento de la relación núcleo citoplasma, e hipercromatismo, más de dos veces del tamaño de un eritrocito.	Sarcoma: Rabdomiosarcoma Sarcoma de Ewing. Osteosarcoma. Ependimoma Blastomas: Meduloblastomas. Retinoblastomas. Hepatoblastomas. Nefroblastomas. Neuroblastomas. Leucemias Leucemia linfoblástica T. Leucemia linfoblástica B.	N/A	Nominal
Variables de Control				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable
Sexo	Condición de una persona que distingue entre hombre y mujer	Hombre Mujer	H M	Dicotómica
Edad	Tiempo vivido de una persona	0-18	Años	Continua

TIPO DE MUESTREO.

- Conveniencia

CÁLCULO DE TAMAÑO DE MUESTRA

Poblaciones Infinitas

$$n = \frac{Z^2_{\alpha} * p * q}{e^2}$$

		Z =	
$\alpha =$	95	Confianza (%)	1.96
$P_1 =$	0.1	Probabilidad de efecto buscado	
$Q =$	0.9	Probabilidad de NO efecto.	
$e =$	0.08	Error de la Estima	
$n =$	54.0205147		
Redondeo=	55		

MÉTODO DE ALEATORIZACIÓN

- No aplica

PRUEBA PILOTO

- No aplica

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- Se calcularon medidas de tendencia central y de dispersión para cada una de las variables involucradas.

ASPECTOS ÉTICOS

El estudio de investigación con fines de tesis se llevó a cabo con completo apego a las normas de privacidad, en la responsabilidad del jefe de departamento, quien es el custodio de la información, registros, nombres, especímenes (bloques de parafina). Los participantes en la investigación tuvieron acceso únicamente a la información estadística, número de registro patológico y diagnóstico morfológico, quedando bajo resguardo del responsable de la información confidencial, los bancos de tejidos, por lo que no se fue requerida la carta de consentimiento informado.

Investigación sin riesgo. Este estudio no representó riesgo para las y los pacientes ya que no fueron involucrados de manera directa, pues sólo se dispuso del uso del material histopatológico, sin generar una intervención adicional inmediata.

Los datos de los casos se manejaron por medio del número institucional asignado al material, además del carácter confidencial con el que se procesó la información disponible y generada.

Después de la revisión de la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SSA3-2012 del Expediente Clínico y la Declaración de Helsinki se concluyó que no existe riesgo para las y los pacientes involucrados; así mismo se obtuvo la aprobación del Comité de Ética e Investigación.

RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES

- Personal del laboratorio del Departamento de Anatomía Patológica; del área de archivo, Teresa López López quién realizará la búsqueda de los bloques de parafina y laminillas de piezas a estudiar.
- Personal técnico del laboratorio de inmunohistoquímica del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto” Angélica Ma. Esquivel Ojeda y Susana de los Ángeles Chávez Porras, quienes realizarán la tinción de inmunohistoquímica de los bloques de parafina a estudiar.
- Médico adscrito, Dra. Mary Carmen Gutiérrez Gil quien se será responsable de la supervisión y análisis del estudio de inmunohistoquímica.
- Asesor metodológico, Dr. Héctor Gerardo Hernández Rodríguez quien realizará el análisis estadístico.

RECURSOS MATERIALES

- Bloques de parafina y laminillas.
- Anticuerpo NKX 2.2
- Computadora.
- Hojas de registro de datos.
- Paquete de Word, Excel.

CAPACITACIÓN DE PERSONAL

- El personal presenta la capacitación adecuada para el manejo del anticuerpo.

FINANCIAMIENTO

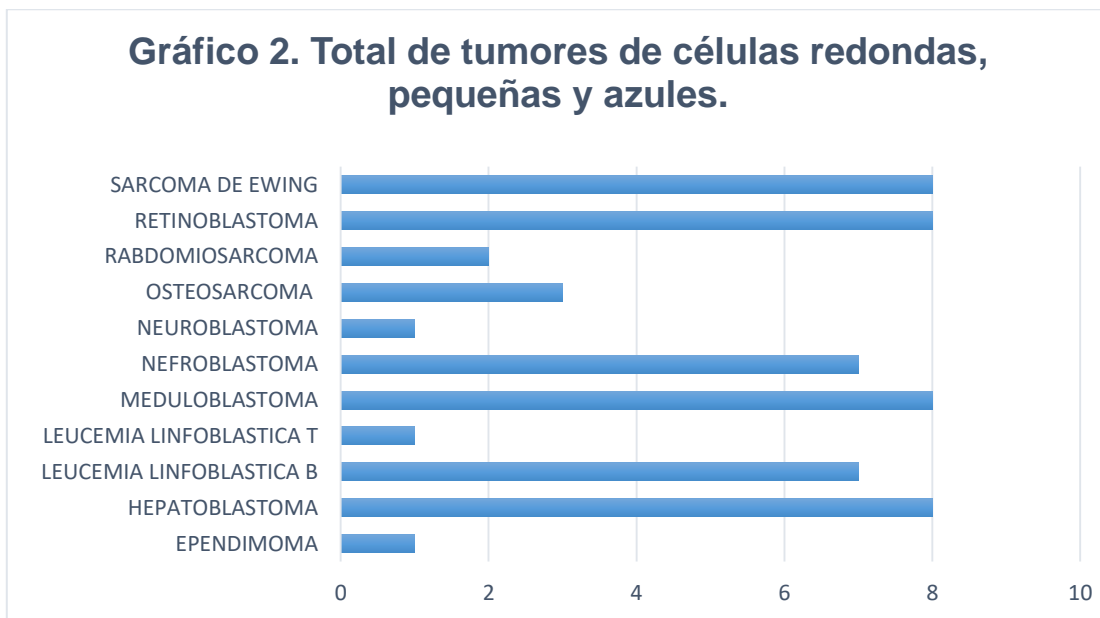
- El financiamiento fue por parte de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. El anticuerpo NKX 2.2 se encuentra dentro del catálogo de anticuerpos pertenecientes al laboratorio de inmunohistoquímica de la UASLP como parte del programa de cáncer en niños, con un costo de 17,244.85 pesos.

METODOLOGÍA DE REALIZACIÓN DE INMUNOHISTOQUIMICA

- La técnica de inmunohistoquímica para el manejo del anticuerpo NKX2.2 se realizó conforme a la ficha técnica de BioSB y el personal del Laboratorio de Inmunohistoquímica del Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Central descrita en el anexo 9.

RESULTADOS.

Se logró obtener un total de 82 casos con diagnóstico histopatológico de tumores de células pequeñas, redondas y azules en los que se incluyeron neuroblastomas, retinoblastomas, hepatoblastomas, nefroblastomas, ependimomas, meduloblastomas, rabdomiosarcomas, osteosarcomas, sarcomas de Ewing y leucemias linfoblásticas con inmunofenotipo B y T, sin embargo; se eliminaron 27 casos por no cumplir con los criterios de selección, quedando un total de 55 casos para su estudio, dichos casos se obtuvieron en un total de siete años; del periodo del 2015 al 2021. Donde se recabaron nueve meduloblastomas, un ependimoma, ocho hepatoblastomas, ocho retinoblastomas, ocho sarcomas de Ewing, siete nefroblastomas, dos rabdomiosarcomas, tres osteosarcomas, un neuroblastoma, siete leucemias linfoblásticas B y una leucemia linfoblástica T. (Gráfica 2).



La información demográfica y clínica relacionada con los tumores de células pequeñas, redondas y azules, relación con el tipo de tumor, sexo, edad y localización se encuentran mostradas en el cuadro 4.

Cuadro 4. Características clínicas de los TCPRA					
Tumor	No Casos	Sexo	Edad media	Rango de presentación	Localización
Meduloblastoma	9	H:2 M:7	7 años	2-18 años	Fosa posterior
Hepatoblastoma	8	H:6 M:2	2 años	6 m -5a	
Retinoblastoma	8	H:3 M:5	2 años	1-4 años	Ojo derecho: 5 Ojo izquierdo: 3
Sarcoma de Ewing	8	H:4 M:4	14 años	6-18 años	Base de cráneo: 2 Humero izquierdo: 2 Fémur derecho: 1 Espacio muscular no especificado :1 Material de revisión:1
Nefroblastoma	7	H:2 M:5	5 años	1-18 años	
Leucemia linfoblástica B	7	H:5 M:2	8 años	3-17 años	
Rabdomiosarcoma	2	H:1 M:1	12 años	5-18 años	Región vestibular: 1 Cuello: 1
Osteosarcoma	3	H:1 M:2	15 años	11-18 años	Fémur derecho: 2 Material de revisión: 1
Ependimoma	1	H	17 años		Fosa posterior
Leucemia linfoblástica T	1	H	16 años		
Neuroblastoma	1	H	1 año		Retroperitoneal

Con relación a la inmunexpresión positiva del anticuerpo NKX2.2 en patrón nuclear mayor al 5% en 13 de 55 casos (23.6%), que corresponden a 2/8 retinoblastomas (25%), 1/1 ependimoma (100%), 6/8 sarcomas de Ewing (75%) 1/1 neuroblastoma (100%), 2/3 osteosarcomas (66.67) y 1/7 nefroblastomas (14.29%) como se muestra en la Gráfica 3 y Figura 3.

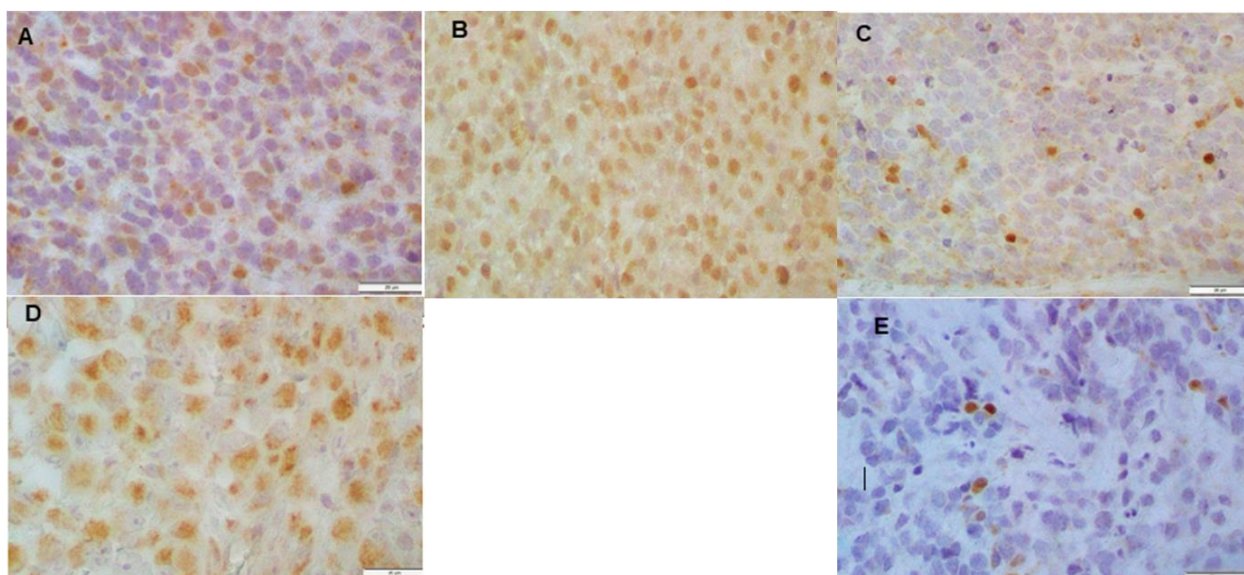
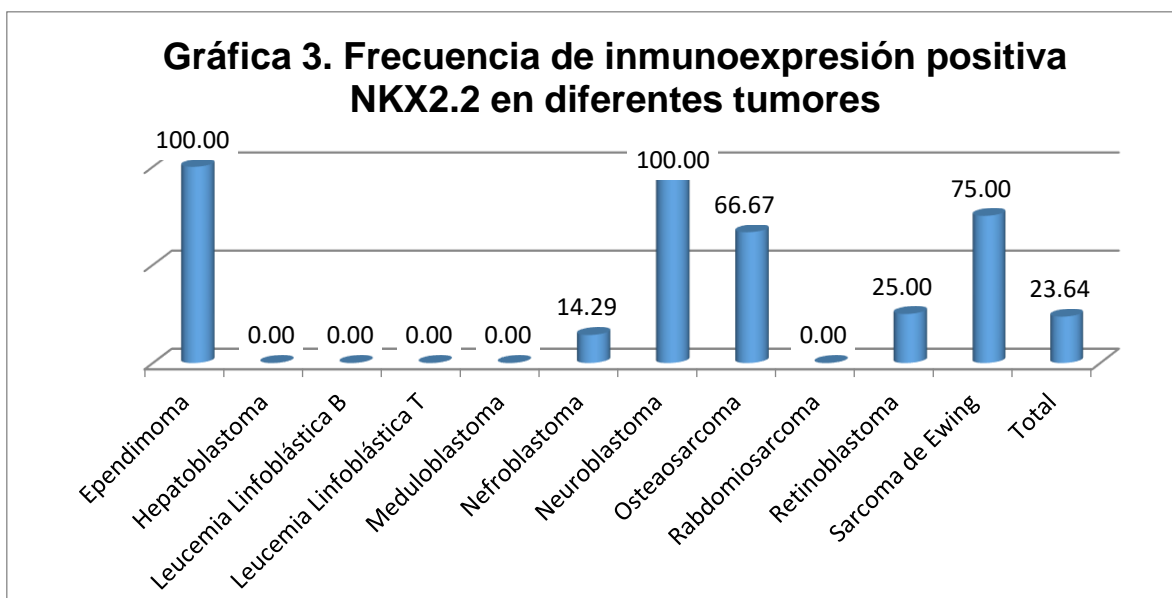
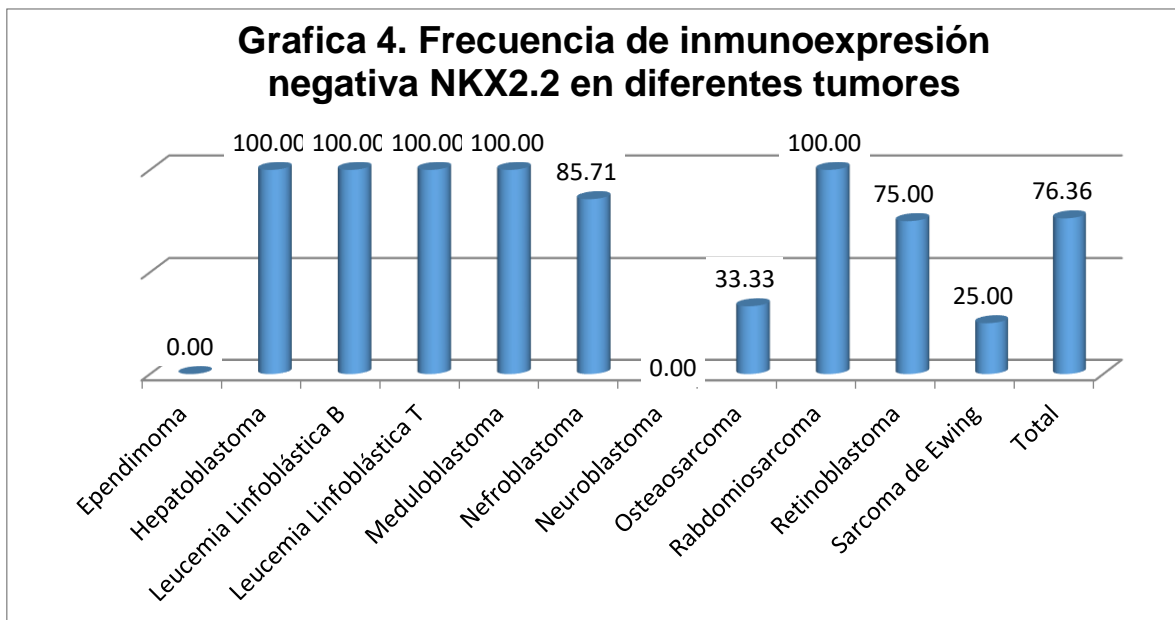


Figura 3. Inmunexpresión positiva nuclear de NKX2.2. **A)** Ependimoma, **B)** Osteosarcoma, **C)** Neuroblastoma, **D)** Nefroblastoma, **E)** Retinoblastoma.

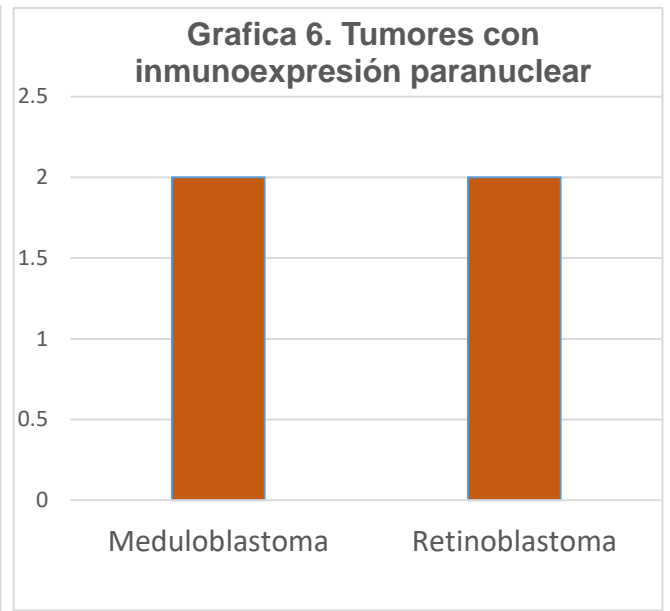
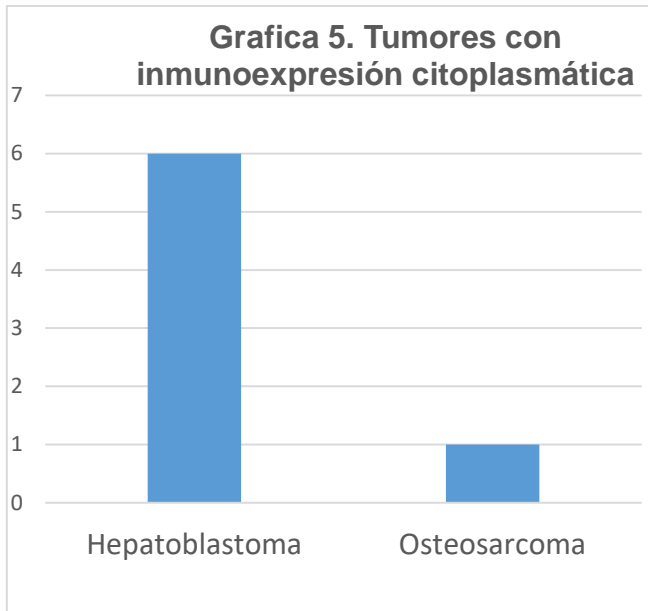
Con relación a la inmunexpresión negativa el anticuerpo NKX2.2 en el 76.4 % de los casos que corresponden a 8/8 hepatoblastomas (100%), 7/7 (100%) leucemias linfoblásticas B, 1/1(100 %) leucemia linfoblástica T, 9/9(100%) meduloblastomas, 6/7 nefroblastomas (85.71%), 1/3 (33.33%) osteosarcomas, 2/2(100%) rabdomiosarcomas, 6/8(75%) retinoblastomas y 6/8 (75%) sarcomas de Ewing, como se observa en la Gráfica 4.



La comparación entre la frecuencia de inmunexpresión positiva y negativa del anticuerpo NKX2.2 en los TCPRA, se observa en el cuadro 5. Para el análisis de la significancia estadística se utilizó la fórmula de distribución multihipergeométrica para todo el grupo con un valor de $P= 0.00000001$.

Cuadro 5. Frecuencia de la inmunexpresión de NKX2.2 en diferentes tumores.				
Tumor	Positivos	Negativos	Total	Positivo %
Ependimoma	1	0	1	100.00
Hepatoblastoma	0	8	8	0.00
Leucemia Linfoblástica B	0	7	7	0.00
Leucemia Linfoblástica T	0	1	1	0.00
Meduloblastoma	0	9	9	0.00
Nefroblastoma	1	6	7	14.29
Neuroblastoma	1	0	1	100.00
Osteosarcoma	2	1	3	66.67
Rabdomiosarcoma	0	2	2	0.00
Retinoblastoma	2	6	8	25.00
Sarcoma de Ewing	6	2	8	75.00
Total	13	42	55	23.64
Distribución multihipergeométrica	P=0.00000001			

Como hallazgos secundarios con relación al patrón de inmunexpresión del anticuerpo NKX2.2 en citoplasma y paranuclear se observó lo siguiente: los hepatoblastomas presentaron inmunexpresión citoplasmática en 6/8 casos y en 1/3 osteosarcomas, mientras que la expresión paranuclear se obtuvo en 2/9 meduloblastomas y 2/ 8 retinoblastomas (Gráfica 5 y 6).



El anticuerpo NKX2.2 fue positivo en el 75% de los Sarcomas de Ewing y el 15% se expresó en otros TCPRA. Para comparar la inmunoexpresión positiva de sarcoma de Ewing con el resto de los tumores se utilizó la fórmula de Fisher para valorar la significancia estadística con un resultado de $P = 0.001$ (Cuadro 6).

Cuadro 6. Comparación de casos positivos entre sarcoma de Ewing y el resto de los tumores de células pequeñas, redondas y azules.

Tumor	Positivos	Negativos	Total	Positivos %
Sarcoma de Ewing	6	2	8	75.00
Resto de tumores de CPRA	7	40	47	14.89
Total	13	42	55	23.64
Fisher:	P = 0.001			

DISCUSIÓN

Los tumores de células pequeñas, redondas y azules son la principal causa de neoplasia de la edad pediátrica en nuestro país, con un alto índice de morbilidad y mortalidad alrededor del mundo, por lo que es importante obtener un diagnóstico histopatológico preciso, siendo principalmente leucemias, tumores del sistema nervioso central y tumores sólidos ⁽²⁵⁾.

La proteína NKX2.2 actúa de manera normal como factor de transcripción necesario para la especificación adecuada de los linajes celulares de los islotes pancreáticos ⁽²⁶⁾, así como su participación y función en el desarrollo de oligodendrocitos y en el desarrollo de la médula espinal ventral en etapas embrionarias. Se han informado cada vez más estudios sobre la expresión de NKX2.2 y su inmunoeexpresión en varios cánceres, así como factor pronóstico, no obstante, en la mayoría de los éstos aún se desconoce la fisiopatogenia de su expresión. Con relación a la literatura analizada destacan las investigaciones hechas por Yuan He *et al.*, que describen al factor de transcripción NKX2.2 como un supresor tumoral en el cáncer colorrectal debido a la metilación del ADN ⁽²⁷⁾. Bhat *et al.*, reportó la utilidad de NKX2.2 como biomarcador para la detección oportuna del cáncer cervicouterino por análisis de secuenciación ⁽²⁸⁾. De igual manera se ha visto su utilidad como un marcador sensible y específico en los tumores neuroendocrinos pancreáticos y gastrointestinales como fue reportado por Yang *et al.* ⁽²⁹⁾.

Con base en estudios previos se ha demostrado que NKX2.2 puede ser un marcador útil para el diagnóstico de sarcoma de Ewing actuando como transformador oncogénico, con una alta sensibilidad y moderada especificidad; utilizado como marcador por técnica de inmunohistoquímica para la confirmación diagnóstica en comparación con otros tumores de células pequeñas, redondas y azules, aunque otros tumores han demostrado la inmunoeexpresión del anticuerpo NKX2.2.

Comparando la literatura ya descrita con nuestro estudio se puede analizar lo siguiente: Fletcher *et al.*, evaluaron 270 casos de TCPRA y otros tumores de tejidos blandos con mutación en *EWSR1* entre ellos el Sarcoma de Ewing, observaron la

inmunoexpresión del anticuerpo NKX2.2 en diversos TCPRA entre los cuales fueron Sarcoma de Ewing atípico, condrosarcomas mesenquimales(75%), neuroblastomas (1%), neuroblastomas olfatorios(80%), entre otros, con una variabilidad en la edad de los casos desde 4 hasta 76 años y diversas localizaciones del cuerpo, obteniendo variabilidad en los resultados sin mencionar si hubo significancia con relación a la utilidad del NKX2.2 en tumores de tejidos blandos con traslocación de *EWSR1*. En nuestro caso se estudió exclusivamente la inmunoexpresión del anticuerpo NKX2.2 en los tumores de células pequeñas, redondas y azules de la edad pediátrica, obteniendo un valor de $P=0.00000001$; con lo cual se demostró que existe una heterogeneidad en la inmunoexpresión del anticuerpo en estos tumores, con una asociación estadísticamente significativa; por otro lado al realizar una comparación específicamente con los neuroblastomas estudiados por Hung & Fletcher con nuestro estudio hubo concordancia al observarse al mostrar inmunoexpresión en neuroblastomas.

El tumor donde se presentó mayor inmunoexpresión del anticuerpo NKX2.2 fue en el sarcoma de Ewing, por lo tanto se comparó su expresión positiva con el resto de los tumores de células pequeñas, redondas y azules y se obtuvo un valor de $P=0.0001$, por lo cual su inmunoexpresión es significativamente más alta que en el resto de los tumores de células pequeñas, redondas y azules, de acuerdo con lo referido en la literatura específicamente por Yoshida *et al*, quienes demostraron previamente la funcionalidad del anticuerpo para los sarcomas de Ewing como confirmación diagnóstica.

McCuiston y cols., utilizaron TCPRA de la región de cabeza y cuello; en el cual demostraron que NKX2.2 es un marcador sensitivo para sarcoma de Ewing, aunque no tan específico, al evidenciar inmunoexpresión positiva en un subconjunto de neuroblastomas olfativos, carcinoma de células pequeñas y teratocarcinomas que, si bien, estos tumores no fueron analizados en nuestro estudio, difirió en cuestión en la inmunoexpresión en sarcomas de Ewing, al tener dos casos negativos en nuestro caso.

A nivel de sistema nervioso central poco se ha estudiado la inmunoexpresión del anticuerpo NKX2.2, siendo un precursor principal de células gliales; ya que como se mencionó anteriormente Mariyath y cols, demostraron la inmunoexpresión de NKX2.2 en oligodendrogliomas y glioblastomas como un biomarcador diagnóstico⁽³⁰⁾; en nuestro estudio se obtuvo inmunoexpresión positiva en un ependimoma, y no existió expresión en meduloblastomas, siendo los primeros casos en la literatura en valorar la inmunoexpresión en estos tumores.

Con relación a la inmunoexpresión de NKX2.2 en osteosarcomas, Chen y colaboradores por medio de cultivo celular encontraron expresión del gen NKX2.2 como supresor de la migración tumoral a pesar de que actualmente aún no queda claro su papel en la patogénesis; en nuestro estudio se utilizó NKX2.2 a través de inmunohistoquímica con positividad en dos casos, no obstante, faltan más estudios para comprender su inmunoexpresión en los osteosarcomas.

Entre otras neoplasias en las cuales se ha visto expresión aberrante de NKX2.2 se encuentran los linfomas de Hodgkin y leucemias linfoblásticas B y T referido por Nagel y cols., en el cual fue señalada a través de medios de cultivos celulares y biología molecular, en nuestro estudio no se obtuvo inmunoexpresión positiva en los casos estudiados.

Por otra parte, a pesar de que se ha escrito sobre la función del NKX2.2 a nivel molecular, genético, o bien como marcador oncogénico, factor pronóstico o como inmunosupresor tumoral, existen pocos estudios en el cual se utiliza a través de la técnica de inmunohistoquímica, y a su vez los estudios han sido efectuados en población general y en tumores de células pequeñas redondas y azules de cualquier localización. Aunque gran parte de estos tumores se presentan principalmente en la edad pediátrica no hay estudios con énfasis en esta población.

Se resume las características de los estudios previos comparativos de la inmunexpresión de NKX2.2 en diversos TCPRA en el cuadro 7.

Cuadro 7.
Comparación de estudios previos sobre la expresión de NKX2.2 y otros TCPRA.

Autores	Año	Población	Método	Inmunexpresión positiva de NKX2.2
Yoshida A, Sekine S, Tsuta K, Fukayama M, Furuta K, Tsuda H.	2012	160	Inmunohistoquímica	<ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma de Ewing • Neuroblastoma olfatorio • Sarcoma sinovial pobremente diferenciado • Condrosarcoma mesenquimal • Melanoma • Neuroblastoma
Hung Y, Fletcher C, Hornick J.	2016	270	Inmunohistoquímica	<ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma sinovial pobremente diferenciado • Carcinoma de células pequeñas • Neuroblastoma • Neuroblastoma olfatorio
McCuiston A, Bishop J.	2017	170	Inmunohistoquímica	<ul style="list-style-type: none"> • Sarcoma de Ewing • Teratocarcinoma • Melanoma • Neuroblastoma olfatorio
Nagel, S., MacLeod, R., Pommerenke, C	2018	17	Biología molecular	<ul style="list-style-type: none"> • Linfoma de Hodking • Leucemias linfoblásticas T • Leucemias linfoblásticas B
Chen H, Wenqiang L, Zhong L.	2018	N/A	Biología molecular	<ul style="list-style-type: none"> • Osteosarcoma
Russell-Goldman E, Hornick JL, Qian X, Jo VY.	2018	107	Inmunohistoquímica	<ul style="list-style-type: none"> • Carcinoma células pequeñas • Carcinoma de células de Merkel • Sarcoma sinovial • Rabdomyosarcoma

LIMITACIONES Y NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.

Limitaciones.

- Ausencia de material a estudiar, ya que algunos casos no se contaban con el bloque de tejido en el archivo del departamento de Anatomía Patológica o este se encontraba en malas condiciones para la realización de estudios de inmunohistoquímica.

Nuevas perspectivas de investigación.

- Continuar utilizando el anticuerpo NKX2.2 en aquellas entidades que presentaron inmunexpresión positiva como ependimomas, neuroblastomas, retinoblastomas, nefroblastomas y osteosarcomas, de los cuales aún no se ha descrito su uso en la literatura.
- Utilizar el anticuerpo NKX2.2 como factor pronóstico en aquellos casos con inmunexpresión positiva en los casos en los cuales no se ha descrito en la literatura.
- Extender la investigación sobre los hallazgos encontrados con relación a la expresión en patrón citoplásmico y paranuclear del anticuerpo NKX2.2 en hepatoblastomas, meduloblastomas, retinoblastomas, que si bien fue un hallazgo secundario no existe en la literatura referencia conforme al patrón de inmunexpresión.

CONCLUSIONES

- La significancia obtenida logró demostrar la heterogeneidad de la inmunexpresión positiva del anticuerpo NKX2.2 en diversos tumores de células pequeñas, redondas y azules.
- Que la positividad de NKX2.2 no es exclusiva del sarcoma de Ewing a pesar de que es el tumor en el cual se expresa con mayor frecuencia; se debe ser cauteloso al interpretar los hallazgos de la inmunexpresión positiva presentada en los TCPRA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. International Agency for Research on Cancer. GLOBOCAN: estimated cancer incidence, mortality, and prevalence worldwide in 2018. Lyon, France: IARC; 2018 Dec Available from: <http://globocan.iarc.fr/>
2. Gupta S, Howard SC, Hunger SP, et al. Treating Childhood Cancer in Low- and Middle-Income Countries. In: Disease Control Priorities, volume 3. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343626/>
3. Howard SC, Zaidi A, Cao X, et al. The My Child Matters programmer: effect of public-private partnerships on pediatric cancer care in low-income and middle-income countries. Lancet Oncol. 2018; 19(5):e252-e266.
4. Registro de Cáncer en Niños y Adolescentes resultados 2019. Secretaría de Salud. Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud. Dirección General de Epidemiología. www.gob.mx/salud
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/632369/RNCA_2019.pdf
5. INEGI. Comunicado de prensa nuemro74/22; 2-02.22
https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/aproposito/2022/EAP_CANCER_22.docx
6. Wei S, Siegal G. Round Cell Tumors of Bone. Advances in Anatomic Pathology [Internet]. 2014 [cited 31 January 2022];21(5):359-372. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25105937/>
7. Lessnick S, Dei Tos A, Sorensen P, Dileo P, Baker L, Ferrari S et al. Small Round Cell Sarcomas. Seminars in Oncology [Internet]. 2009 [cited 31 January 2022];36(4):338-346. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19664494/>
8. McCuiston A, Bishop J. Usefulness of NKX2.2 Immunohistochemistry for Distinguishing Ewing Sarcoma from Others Sinonasal Small Round Blue Cell

Tumors. Head and Neck Pathology [Internet]. 2017 [cited 31 January 2022]; 12-(1): 89-94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5873485>

9. Barroca H. Pediatric Small Round Blue Cell Tumors: Cytopathological Puzzle or an Intriguing Scientific Window? Acta Cytologica [Internet]. 2021 [cited 31 January 2022];:1-17. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34289477/>

10. Patel R, Shah P, Prajapati S, Amin N, Khant V. Histopathological study of Round Cell tumors - A retrospective study. International Journal of Medical Science and Public Health [Internet]. 2017 [cited 31 January 2022];6(2):1. Available from: <https://www.bibliomed.org/mnsfulltext/67/67-1471155499.pdf?1643588716>

11. D, Gill M, Sharma G, Gupta S, Jain P, Gupta V et al. Evaluation of a panel of ihc Markers in Differentiation of Extranodal Malignant Small Round Cell Tumors. International Journal of Advanced Research [Internet]. 2019 [cited 31 January 2022];7(1):905-912. Available from: <https://www.journalijar.com/article/26551/evaluation-of-a-panel-of-ihc-markers-in-differentiation-of-extranodal-malignant-small-round-cell-tumors/>

12. Anderson W, Doyle L. Updates from the 2020 World Health Organization Classification of Soft Tissue, and Bone Tumours. Histopathology [Internet]. 2021 [cited 31 January 2022];78(5):644-657. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33438273/>

13. Sharma, S., Kamala, R., Nair, D., Ragavendra, T. R., Mhatre, S., Sabharwal, R., Choudhury, B. K., & Rana, V. Round Cell Tumors: Classification and Immunohistochemistry. Indian J Med Paediatr Oncol. 2017; 38(3), 349–353. https://doi.org/10.4103/ijmpo.ijmpo_84_16

14. Hung Y, Fletcher C, Hornick J. Evaluation of NKX2-2 expression in round cell sarcomas and other tumors with EWSR1 rearrangement: imperfect specificity for Ewing sarcoma. Modern Pathology [Internet]. 2016 [cited 31 January 2022]; 29(4):370-380. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26847175/#:~:text=NKX2%2D2%20positivity%20>

15. Watada H, Mirmira R, Kalamaras J, German M. Intramolecular control of transcriptional activity by the NK2-specific domain in NK-2 homeodomain proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [Internet]. 2000 [cited 31 January 2022];97(17):9443-9448. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10944215/>
16. J. Briscoe, L. Sussel, P. Serup, D. Hartigan-O'Connor, T.M. Jessell, J.L. Rubenstein, J. Ericson, Homeobox gene *Nkx2.2* and specification of neuronal identity by graded Sonic hedgehog signalling, *Nature* 398 (1999) 622-627
17. D’Cruze L. The Role of Immunohistochemistry in the Analysis of the Spectrum of Small Round Cell Tumours at a Tertiary Care Centre. *Journal Of Clinical and Diagnostic Research* [Internet]. 2013 [cited 31 January 2022];. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23998069/>
18. Chen H, Liu W, Zhong L, Liao D, Zhang R, Kang T, Wu Y. NKX2-2 suppresses osteosarcoma metastasis and proliferation by downregulating multiple target genes. *Journal of Cancer* [Internet]. 2018 [consultado el 23 de noviembre de 2022];9(17):3067-77. Disponible en: <https://doi.org/10.7150/jca.26382>
19. Lawson MH, Cummings NM, Rassl DM. et al. Two Novel determinants of etoposide resistance in small cell lung cancer. *Cancer Res.* 2011;71:4877–87.
20. Syed Madiha, Mushtaq Sajid, Loya Asif, Hassan Usman. NKX3.1 a useful marker for mesenchymal chondrosarcoma: An immunohistochemical study. *Ann Diagn Pathol.* 2021. Feb; 50:151660. Doi: 10.1016/j.anndiagpath.2020.151660. Epub 2020 Nov 5.
21. Machado I, Yoshida A, Morales M, Abrahão-Machado L, Navarro S, Cruz J et al. Review with novel markers facilitates precise categorization of 41 cases of diagnostically challenging, “Undifferentiated small round cell tumors”. A clinicopathologic, immunophenotypic and molecular analysis. *Annals of Diagnostic Pathology* [Internet]. 2018 [cited 31 January 2022]; 34:1-12. Available from: <https://booksc.eu/book/67739057/f48777>

22. Russell-Goldman E, Hornick JL, Qian X, Jo VY. NKX2.2 immunohistochemistry in the distinction of Ewing sarcoma from cytomorphologic mimics: Diagnostic utility and pitfalls. *Cancer Cytopathol.* 2018 Nov; 126(11):942-949. doi: 10.1002/cncy.22056. Epub 2018 Oct 30. PMID: 30376220.
23. Yang MX, Coates RF, Ambaye A. et al. NKX2.2, PDX-1 and CDX-2 as potential biomarkers to differentiate well differentiated neuroendocrine tumors. *Biomark Res.* 2018; 6:15.
24. Nagel, S., MacLeod, R., Pommerenke, C., Meyer, C., Kaufmann, M., & Drexler, H. G. (2018). NKX homeobox gene NKX2-2 is aberrantly expressed in Hodgkin lymphoma. *Oncotarget*, 9(101), 37480-37496. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26459>
25. Rodriguez-Romo L, Olaya Vargas A, Gupta S, Shalkow-Klincovstein J, Vega-Vega L, Reyes-Lopez A, Cicero-Oneto C, Mejia-Arangure J, Gonzalez-Ramella O, Pineiro-Retif R, Lopez-Facundo A, de los Angeles Del Campo-Martinez M, Tejocote I, Brennan K, Booth CM. Delivery of Pediatric Cancer Care in Mexico: A National Survey. *Journal of Global Oncology* [Internet]. Diciembre de 2018 [consultado el 23 de noviembre de 2022];(4):1-12. Disponible en: <https://doi.org/10.1200/jgo.17.00238>
26. Mastracci TL, Wilcox CL, Arnes L, Panea C, Golden JA, May CL, Sussel L. Nkx2.2 and Arx genetically interact to regulate pancreatic endocrine cell development and endocrine hormone expression. *Developmental Biology* [Internet]. Noviembre de 2011 [consultado el 23 de noviembre de 2022];359(1):1-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2011.08.001>
27. Mastracci TL, Wilcox CL, Arnes L, Panea C, Golden JA, May CL, Sussel L. Nkx2.2 and Arx genetically interact to regulate pancreatic endocrine cell development and endocrine hormone expression. *Developmental Biology* [Internet]. Noviembre de 2011 [consultado el 23 de noviembre de 2022];359(1):1-11. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2011.08.001>

28. Bhat S, Kabekkodu SP, Varghese VK, Chakrabarty S, Mallya SP, Rotti H, Pandey D, Kushtagi P, Satyamoorthy K. Aberrant gene-specific DNA methylation signature analysis in cervical cancer. *Tumor Biology* [Internet]. Marzo de 2017 [consultado el 23 de noviembre de 2022];39(3):101042831769457. Disponible en: <https://doi.org/10.1177/1010428317694573>

29. He Y, Liu XY, Gong R, Peng KW, Liu RB, Wang F. NK homeobox 2.2 functions as tumor suppressor in colorectal cancer due to DNA methylation. *Journal of Cancer* [Internet]. 2020 [consultado el 23 de noviembre de 2022];11(16):4791-800. Disponible en: <https://doi.org/10.7150/jca.43665>.

30. Mariyath MP, Shahi MH, Farheen S, Tayyab M, Khanam N, Ali A. Novel Homeodomain Transcription Factor Nkx2.2 in the Brain Tumor Development. *Current Cancer Drug Targets* [Internet]. 5 de junio de 2020 [consultado el 23 de noviembre de 2022];20(5):335-40. Disponible en: <https://doi.org/10.2174/1568009618666180102111539>.