

Neuropatología (440 - 456)

440 ENCEFALOPATÍA PELAGROSA. CAMBIOS MORFOLÓGICOS CARACTERÍSTICOS

A. Astudillo, J. A. Manjón, C. Turiel, A. Ribas, T. G. Miralles, M. V. Folgueras, C. Hernández-Laboz, J. Tolivia. Hospital Central de Asturias. Oviedo.

INTRODUCCIÓN: Las encefalopatías carenciales se observan en nuestro ambiente asociadas a hábitos tóxicos (alcoholismo) y en enfermos tratados con drogas que en su metabolización consumen vitaminas. Algunas de ellas tienen un substrato morfológico característico, como la encefalopatía de Wernicke.

La encefalopatía pelagrosa, a pesar de contar con unos rasgos clínicos significativos, entre los que destaca la hipertonia generalizada, y de originar alteraciones neuronales llamativas, es raramente diagnosticada en nuestro ambiente, quizá por desconocimiento de la entidad o porque en la parte que nos corresponde a los patólogos, no se acostumbra a incluir en los estudios postmortem la toma de muestras de protuberancia, y es precisamente en los núcleos del puente en donde se encuentran de manera constante los cambios neuronales. Desearnos comunicar estos dos casos de pacientes autopsiados con objeto de insistir en los rasgos patológicos característicos de esta encefalopatía carencial.

EXPOSICIÓN DE LOS CASOS: Se trata de dos pacientes de 36 y 59 años, ambos con alcoholismo crónico y desnutridos, que ingresan en el Hospital por presentar signos de intoxicación alcohólica y sintomatología neurológica importante. Uno de ellos hizo una crisis tónico-clónica generalizada en Urgencias. Ambos tenían un síndrome demencial e hipertonia generalizada sin piramidismo. Como suele ser característico de la encefalopatía pelagrosa en alcohólicos, no mostraban otros rasgos clínicos de pelagra. Ambos fallecieron con complicaciones infecciosas. Sólo en el más joven se sospechó la encefalopatía aunque tardamente, siendo el tratamiento sustitutivo adecuado instaurado poco antes de su muerte, en la que pareció jugar un importante papel la encefalopatía. En la autopsia de ambos se observó una masiva cromatolisis en las neuronas del puente, formación reticular, astas posteriores de la médula, núcleos de los cordones posteriores y aisladamente en algunas neuronas de las capas profundas del córtex. Sólo en uno de ellos había atrofia cerebelosa.

DISCUSIÓN. Es probable que la encefalopatía pelagrosa esté siendo subdiagnosticada en nuestro ambiente. Comunicamos estos dos casos con los rasgos diagnósticos de la entidad que puede justificar algunos cuadros encefalopáticos no aclarados. Conviene recordar que la encefalopatía pelagrosa puede asociarse a otras carencias vitamínicas del grupo B.

442 TUMOR RABDOIDE PRIMARIO DEL S.N.C.

I. Casado, A. Pascual, I. Colmenero, I. Ortega, A. Martínez y C. Saldaña. H.C. San Carlos. Madrid.

El tumor rabdoide es una rara neoplasia de histogénesis incierta y comportamiento muy agresivo. Fue descrito por primera vez en 1978, a nivel renal y en niños, como una variante rabdomiosarcomatosa de tumor de Wilms. Posteriormente se ha descrito en partes blandas, corazón e hígado. En SNC hay pocos casos y su localización más común es la fosa posterior.

Presentamos el caso de un varón de 20 años, con crisis motoras asociadas a tumor parietal postrolándico izq., supratentorial, de 1.5 cms. de diámetro. Microscópicamente se observa una población de células de talla mediana, con un patrón de crecimiento sólido y con zonas de necrosis. Las células, ovales y fusiformes, tienen un amplio citoplasma con típica inclusión hialina eosinófila, que desplaza el núcleo. Este es vesicular y con núcleo prominente. Hay mitosis frecuentes. Inmunohistoquímica: las células se tiñen para vimentina, citoqueratinas, EMA y S-100 y son negativas para marcadores musculares.

La hipótesis más aceptada es la de que este tumor no representa una entidad específica, sino que corresponde a la expresión de un fenotipo rabdoide, que puede desarrollarse en una amplia variedad de tumores. Electromicroscópicamente, se ha comprobado que las inclusiones citoplásmicas están constituidas por un agrupamiento de filamentos intermedios. El tumor rabdoide tiene un curso clínico agresivo con terminación precoz al neuroeje.

441 NEUROCITOMA CENTRAL: ESTUDIO CITOMÉTRICO DE CUATRO CASOS

Cañamero, M., Clouet R., García Delgado R., Alvarez Ferreira, J., Ruiz Bamés P., Sarasa J. L.

Fundación Jiménez Díaz. Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 MADRID.

Los neurocitomas centrales son neoplasias de estirpe neuronal, de localización preferente intraventricular y comportamiento benigno. Para evaluar la actividad proliferativa planteamos un estudio de las subpoblaciones celulares proliferantes, mediante citometría de flujo (2 casos en parafina y 2 en tejido fresco) en 4 neurocitomas centrales. Estos fueron diagnosticados mediante estudio histopatológico rutinario, completado con M/E e IHQ.

Los cuatro casos correspondían a mujeres con edades entre 15 y 45 años, con tumores intraventriculares.

El estudio citométrico reveló porcentajes celulares en fase S bajos en todos los casos (6-15) correspondiéndose con fases G₀G₁ altas (66-91). Tres de los casos expresaron índices de DNA en el entorno de 1 (Euploides). Un caso presentó índice de DNA de 1.2 y 1.8 (Aneuploide).

Se concluye que el porcentaje de células en fase S es bajo en estos cuatro neurocitomas como expresión de baja actividad proliferativa, y en correspondencia a su comportamiento poco agresivo.

443 "TUBERCULOMA" Y ABSCESO CEREBRAL POR MICOBACTERIAS ATÍPICAS EN PACIENTES NO INMUNODEPRIMIDOS

S. Casquero, A. Sanz, J. Ibañez, A. Ayala, S. Palacios. Complejo Hospitalario Carlos Haya. Hospital General. Málaga

La tuberculosis intracranial se manifiesta como meningitis o como tuberculomas, siendo probablemente el absceso cerebral la forma menos frecuente. El riesgo es mayor en pacientes inmunodeprimidos.

Presentamos dos casos de pacientes con infección cerebral por micobacterias atípicas en forma de tuberculoma y de absceso cerebral que no presentaban compromiso inmunológico previo.

La paciente con diagnóstico de "tuberculoma" tenía 62 años y debutó con cefaleas, alteraciones visuales y edema bilateral de papila. A nivel pulmonar había una imagen sugestiva de infección tuberculosa. La lesión se localizaba en región occipital izquierda y recidivó tras su extirpación. Histológicamente se apreciaba una amplia zona central necrótica con abundantes polimorfo nucleares rodeada por una intensa reacción inflamatoria crónica con granulomas epitelioides bien definidos con presencia de células gigantes multinucleadas tipo Langhans. Se acompañaba de una notable proliferación vascular tipo tejido de granulación.

La otra paciente, de 77 años, presentó hemiparesia progresiva hasta la hemiplejía. La lesión se localizaba en la región parietal derecha. En el estudio histológico el patrón general era similar al caso anterior pero no se observó en ninguna de las secciones histológicas reacción granulomatosa ni células multinucleadas.

En ambos casos se demostraron numerosos bacilos ácido-alcohol resistentes con la técnica de Ziehl-Neelsen. La mayoría eran intracelulares, formando pequeños acúmulos y eran positivos con la tinción de PAS. Con estas características se consideraron como micobacterias atípicas, probablemente *Mycobacterium avium* intracelular, no llegando a ser filadas por estudio microbiológico.

En el estudio radiológico (TAC y RNM), las lesiones cerebrales en ambos casos fueron consideradas como neoplásicas y etiquetadas como gliomas malignos. Así pues las infecciones por micobacterias deben tenerse en cuenta en el diagnóstico de estas lesiones, siendo definitivo el estudio histológico.

444

PSEUDOTUMOR INFLAMATORIO.

M. Chao, M. Guíjarro, A. Pascual, I. Ortega, A. Martínez y H. Zimman.

El granuloma de células plasmáticas o tumor miofibroblástico inflamatorio puede afectar múltiples órganos. En el sistema nervioso central es una entidad rara. Presentamos el caso de un paciente varón de 50 años de edad, con pérdida completa de agudeza visual en ojo izquierdo e hipoestesia de 1ª rama del trigémino izquierdo. En RMN craneal, se observa lesión hiperintensa en meninges, que afecta techo de la órbita, agujero óptico izquierdo y pared externa del seno cavernoso. Tras la resección parcial de la lesión por craneotomía fronto-temporal izquierda, desapareció la clínica. Microscópicamente el material de biopsia está constituido por tejido inflamatorio con células plasmáticas y células xantomatosas, en el seno del tejido fibroso collagenizado. Con inmunohistoquímica, se demuestra la localización de las células plasmáticas y negatividad para S100 de las células histiocitarias. Los pseudotumores inflamatorios con frecuencia se asocian a lesiones semejantes en el pulmón y pueden ser únicas o múltiples. Es una enfermedad poco común en SNC, cuyo diagnóstico clínico diferencial incluye lesión tumoral, especialmente meningioma o cordoma. El tratamiento de elección son los corticoides (prednisona), con lo que la enfermedad remite completamente.

445

UTILIDAD DIAGNÓSTICA DE LA BIOPSIA CEREBRAL ESTEREOTÁXICA

P. Forcada, J. Casalots, G. González, X. Tarroch, M.A. Aparicio, A. Salas Hospital Mutua de Terrassa Barcelona

INTRODUCCIÓN: La cirugía cerebral estereotáxica se utiliza para la toma de biopsias en lesiones expansivas de difícil acceso o con morbilidad alta para la cirugía convencional, para el diagnóstico y drenaje de abscesos y para la cirugía guiada.
OBJETIVO: Analizar la utilidad diagnóstica de la biopsia cerebral estereotáxica (BCE).
MATERIAL Y MÉTODO: Entre Diciembre de 1982 y Febrero de 1997, se realizaron 60 BCE que correspondían a 59 pacientes, 36 hombres y 23 mujeres, con una edad media de 51 años (16-80). La técnica quirúrgica consiste en la colocación del marco estereotáxico de Leksell, y la realización de una TAC para la selección de zonas y toma de coordenadas. Una vez comprobadas se procedió a la toma de biopsias, utilizándose la aguja de ventana de Sedan. Las muestras se remitieron al servicio de Anatomía Patológica donde se realizaron tinciones citológicas intraoperatorias, con el fin de confirmar que la toma era representativa de la lesión, o indicar una nueva biopsia en caso contrario. De los 60 casos, en 30 se obtuvo 1 sola muestra, en 17 se obtuvieron 2 muestras, en 9 se realizaron 3 tomas y 3 pacientes requirieron 4 tomas. Las biopsias tenían un tamaño que oscilaba entre 0,5 - 1 cm, de longitud por 0,2 cm de diámetro. Tras la realización de la impronta, la muestra se procesó de forma convencional.
RESULTADOS: En los 60 casos la impronta citológica intraoperatoria fue útil para garantizar la adecuación de la toma. Un diagnóstico definitivo se obtuvo en 53 de los 60 casos (88,3%) e incluyó 10 glioblastomas multiformes, 10 astrocitomas de alto grado, 6 astrocitomas de bajo grado, 8 linfomas, 3 carcinomas metastásicos, 1 oligodendroglioma, 1 craneofaringioma, 1 tumor germinal, 1 enfermedad de Whipple, 1 tuberculosis, 2 leucoencefalopatías multifocales progresivas, 1 inflamación inespecífica y 4 casos, que correspondían a enfermos de SIDA, mostraron necrosis, sin poder determinarse el origen. En los 7 casos en que el diagnóstico no fue concluyente (11,3%), 4 no mostraron alteraciones y los otros tres gliosis. Uno de los pacientes con biopsia normal, había recibido tratamiento con corticoides y no mostraba lesión radiológica en el momento de la biopsia, una segunda BCE demostró la existencia de un linfoma.
CONCLUSIONES: La BCE nos permite realizar un diagnóstico en el 80% de los casos. La impronta citológica intraoperatoria, contribuye a obtener dichos resultados. Con ella podemos garantizar un material adecuado sin artefactar la muestra, realizar estudio histológico posterior y tinciones histoquímicas, e inmunohistoquímicas o estudios de ME si son necesarios.

446

TUMORES NEUROEPITELIALES DISEMBRIOPLÁSICOS. PRESENTACIÓN DE TRES NUEVOS CASOS.

E. García-Lagarto, M.T. Ribas-Ariño, J.S. Salas-Valián, J.J. Fernández-Fernández. Hospital de León, LEÓN.

En 1988, Daumas-Duport, Scheithauer, y colaboradores, llaman la atención acerca de un tipo tumoral complejo, clínico y morfológicamente distinguible de otros tumores neuroepiteliales, que de forma periódica encuentran entre su casuística y que son difícilmente encuadrables en la clasificación al uso, en aquel momento, de Tumores Cerebrales de la Organización Mundial de la Salud.
Clínicamente se caracterizan por su presentación en edades tempranas de la vida una historia prolongada de crisis epilépticas complejas y rebeldes al tratamiento habitual, localización supratentorial de las lesiones, en su mayoría en el lóbulo temporal, con un excelente curso clínico postoperatorio, a pesar de extirpaciones incompletas. Los aspectos morfológicos o criterios histológicos que identificarían a estos procesos tumorales son: arquitectura multinodular, polimorfismo celular debido a la presencia heterogénea de diversos tipos celulares, y frecuente asociación a displasia cortical.
De los tres casos que presentamos, los dos primeros son fruto de la revisión de la casuística neuropatológica del servicio de Patología del Hospital de León durante la década de los 80 y el tercero es un caso de presentación reciente (1995). La evolución ha sido desfavorable en uno de los casos, probablemente por falta de identificación precisa en el momento del diagnóstico: Catalogado como Oligodendroglioma (el tumor con el que más frecuentemente se confunden los TNDP), fue objeto de un tratamiento agresivo y falleció a los cinco años del diagnóstico, tras tratamiento radioquimioterápico, sin practicarse necropsia. Los otros dos casos, están libres de lesión 8 y 2 años tras la extirpación.

447

LYMFOMA PRIMITIVO DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E INMUNOFENOTÍPICAS Y ESTUDIO DE LA ASOCIACIÓN CON EL VEB DE 28 CASOS.

M. García-Villanueva, A. Santón, P. San Miguel, G. Plaza, A. Manzanal, J. C. Martínez-Montero y C. Bellas. Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Los linfomas primarios del SNC (LPSNC) son tumores raros, con un aumento de su incidencia en pacientes inmunodeprimidos (ID) y también en inmunocompetentes (IC). La mayoría son B, predominando los de alto grado de células grandes. Su asociación con el VEB es un hecho constante en los pacientes ID, siendo más rara en los IC, esclareciendo las cifras según los diversos estudios.
Materiales y métodos: Se presentan 28 casos de LPSNC, 9 en pacientes con SIDA y 19 en IC. Se analizan sus características histológicas, inmunohistoquímicas (CD-30, CD-20, CD-30 polyclonal, Kappa y Lambda y LMP-1), detección de secuencias del VEB mediante hibridación in situ (HIS) para EBERS (ARNs del VEB) y estudio molecular mediante PCR del gen BNL-1 (LMP-1) del virus.
Resultados: Todos los casos son linfomas difusos, la mayoría de alto grado de malignidad de células grandes (92,8% del total, 100% en SIDA y 89% en IC). Predomina el subtipo inmunoblastico en los casos de SIDA (66,6%) y el centroblástico (47,3%) en los IC. Todos expresan CD-20, detectándose en 11 casos restricción para cadena kappa y en 2 para cadena lambda. Se observa positividad para EBERS en el 100% de los casos de SIDA y en el 32,6% de los IC (Todos ellos de células grandes). La expresión inmunohistoquímica de LMP-1 es positiva en el 100% de los casos asociados a SIDA y sólo en uno de los pacientes IC. En 17 casos amplifica el gen de la LMP-1, detectándose en uno de ellos una delección de 30pb y en otro una delección de más de 30 pb, correspondiendo este último caso a un paciente seropositivo.
Conclusiones: 1.- Todos los casos de LPSNC estudiados son difusos, con una alta proporción del tipo de células grandes. 2.- El subtipo inmunoblastico es más frecuente en el SIDA, mientras que en los pacientes IC es el centroblástico. 3.- Son de estirpe B y frecuentemente (46,4%) presentan Ig C de carácter clonal. 4.- Se observa una alta asociación con el VEB, siendo del 100% en los casos asociados a SIDA. 5.- La técnica de HIS para EBERS se demuestra como el método más sensible para detectar dicha asociación. 6.- El 11% de los casos estudiados se asocian a cepas de VEB con delección del oncogen LMP-1.

448

BIOPSIA ESTEREOTÁXICA DE MASAS CEREBRALES EN PACIENTES CON SIDA.

C. LACRUZ, J. MENARGUEZ, M. L. RICO, F. GARCÍA-SALAZAR*. Servicio de Anatomía Patológica y Neurocirugía*. Hosp. General Universitario "Gregorio Marañón". Madrid.

Los pacientes con SIDA sufren múltiples complicaciones infecciosas y neoplasias del Sistema Nervioso Central, siendo una de las presentaciones radiológicas más comunes la presencia de masas redondeadas con edema perilesional. Ni esta imagen radiológica, ni los datos clínicos ni de laboratorio ofrecen a menudo un resultado determinante, por lo que un estudio biopsico es imprescindible para obtener un diagnóstico definitivo.
MÉTODO: Se realiza biopsia estereotáxica en 90 casos de masas cerebrales en pacientes con SIDA sin respuesta al tratamiento empírico antitoxoplásmico. Se utiliza el sistema de Leksell de microstereotaxia guiado por scanner y bajo anestesia local. Mediante una cánula fina se obtienen 3-4 muestras a unos pocos milímetros de intervalo. En todos los casos se realiza citología intraoperatoria teñida con Diff-Quick como método de control de la calidad del material. El resto de la biopsia se fija en formol al 10% realizándose tinciones standard así como tinciones especiales para microorganismos e inmunohistoquímica.
RESULTADOS: Se obtuvo diagnóstico específico en 78 casos (86,6%), que correspondieron a linfomas, 36 casos (40%); leucoencefalopatía multifocal progresiva, 26 casos (28,2%); toxoplasmosis, 12 casos (13,3%); micetomas, 2 casos (2,2%); tuberculosis, 2 casos (2,2%), e infección por citomegalovirus, 1 caso (1,1%). En los 12 casos restantes (13,3%), se observaron cambios reactivos y/o inflamatorios inespecíficos sin encontrar el agente etiológico. La mortalidad atribuible al método fue del 3,3%, correspondiente a 3 casos de hemorragia intracranial. Todos ellos se dieron al principio de la serie, cuando las condiciones hematológicas de los pacientes no se consideraban de una forma estricta.
CONCLUSIONES: La biopsia estereotáxica es un método diagnóstico seguro y eficaz, muy útil en el estudio de las lesiones ocupantes de espacio cerebrales que no responden al tratamiento empírico antitoxoplásmico, y del cual se benefician la mayoría de los pacientes, ya que el diagnóstico obliga, por lo general, a un cambio de actitud terapéutica. El control citológico intraoperatorio de la calidad de la muestra es esencial para un rendimiento elevado del método.

449

ESTUDIO CLÍNICO-PATOLÓGICO DE 100 CASOS DE EPILEPSIA FARMACO-RESISTENTE.

A. Moreno, R. García-Sola, J. de Felipe y S. Ramón y Cajal Agüeras. Clínica Puerta de Hierro. Hospital de la Princesa. Instituto Cajal. Madrid.

Se presentan 100 pacientes con epilepsia farmacoresistente, 53 hombres y 47 mujeres, de entre 7 y 53 años. La evaluación de las crisis es de más de 5 años (91%), con epilepsia temporal izquierda predominante (71%). Las intervenciones quirúrgicas más utilizadas fueron la resección de un lóbulo o circunvalación (77% de los casos). El 50% no volvieron a registrar crisis, en el 37% sólo detectaron crisis ocasionales y en el 8% persistió la actividad comicial.
Histológicamente se evidenciaron cambios reactivos inespecíficos y gliosis en 65 casos, malformaciones vasculares y cavernomas en 7, colesteatomas en 2 y tumores benignos astrocitarios y de plexos en 6 pacientes, astrocitomas de alto grado en 2 pacientes. En 18 pacientes se detectaron lesiones tumorales hamartomatosas del tipo de meningoangiomas, gliangliomas, y tumores disembrionarios.
Con respecto a otras series, se observa una mayor incidencia comparativa de lesiones hamartomatosas tumorales, con un componente mixto neuronal, neuroblástico y glial. En resumen, alrededor del 30% de los pacientes con epilepsia fármaco-resistente muestran lesiones histopatológicas distintivas. Asimismo, se presentan las alteraciones funcionales neuronales de los focos epileptógenos.

450 TRANSFORMACION MALIGNA DE UN XANTOASTROCITOMA PLEOMORFICO CON METASTASIS EXTRANEURALES
S. Peñáz, E. Huertas, M. Pérez - Ebril, M. Hernández, H. "La Fe", Valencia.

El xantoastrocitoma pleomórfico es un tumor caracterizado por una evolución clínica favorable. No obstante se han descrito casos de una progresiva transformación maligna. Presentamos un caso de transformación maligna de un xantoastrocitoma pleomórfico, que dio lugar a metastasis en distintos órganos de la economía.

Varón de 7 años de edad con tumoración quística en región frontoparietal derecha. El diagnóstico histológico fue de xantoastrocitoma pleomórfico. El paciente desarrolló con posterioridad numerosas recidivas, en las que fue observándose progresivamente mayor actividad mitótica y finalmente necrosis tumoral. En este proceso de transformación maligna, no se detectaron alteraciones citogenéticas sugestivas de inestabilidad genética, ni mutaciones en el gen p53. El paciente falleció tres años después del diagnóstico inicial con una diseminación tumoral multigénica.

La extensión extraneural de los tumores malignos del SNC, es poco frecuente. Se han descrito hasta la actualidad 95 casos, la mayor parte correspondientes a adultos diagnosticados de glioblastoma multiforme. Raramente se han descrito en la edad pediátrica en pacientes diagnosticados de meduloblastoma. Este es el primer caso de un tumor diagnosticado inicialmente de xantoastrocitoma pleomórfico.

En algunos tumores gliales, la transformación maligna fue precedida de mutaciones en el gen p53, sin embargo en nuestro caso no fue así, ni tampoco el estudio citogenético de las sucesivas recidivas mostró un incremento en la inestabilidad genética.

Aunque se han descrito algunos casos de extensión extraneural de tumores malignos del SNC sin cirugía previa, la mayor parte han tenido lugar en pacientes sometidos a craneotomías repetidas.

451 TUMOR NEUROECTODERMICO PRIMITIVO ASOCIADO A TUMOR RABDOIDE RENAL
T. Pereda, R.J. Luque, R. Reyes, M.J. Robles, I. Chinchón
H.U. Virgen del Rocío. Sevilla.

El término de tumor neuroectodérmico primitivo fue introducido por Hart y Earle en 1973 para designar un grupo de neoplasias malignas cerebrales en niños y adultos jóvenes, compuestas predominantemente por células pequeñas, indiferenciadas, que podían contener o no focos de diferenciación, neuronal, glial y/o mesenquimal; histológicamente es similar al meduloblastoma, pero aparece en localizaciones distintas al cerebelo. El término ha sido reintroducido más recientemente para agrupar tumores embrionarios densamente celulares con un origen común en células primitivas indiferenciadas, distinguiéndose únicamente en su localización y grado de madurez alcanzada.

Presentamos el caso de un tumor en sistema nervioso central con localización supratentorial en un lactante diagnosticado de tumor rabdoide renal metastatizante.

El estudio necrópsico evidencia una neoplasia primitiva, de células pequeñas en la que los estudios morfo-histoquímicos demuestran múltiples diferenciaciones neuroectodérmicas.

Validamos el diagnóstico de tumor neuroectodérmico primitivo en el sentido de neoplasia primitiva pluripotencial en la concepción de Hart y Earle. No hallamos ninguna similitud morfológica con el tumor rabdoide precedente y en este sentido pensamos que no está relacionado.

452 RELACION ENTRE LA HIDROCEFALIA Y LA ESTABILIDAD DEL EPITELIO EPENDIMARIO

JM Pérez-Figares¹, M Pérez-Martín², AJ Jiménez¹, Grondona JM², Cifuentes M², Fernández-Llavez P²

Dptos. de ¹Biología Celular y Genética y ²Biología Animal. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga.

La hidrocefalia es debida a la alteración de procesos fisiológicos y tiene múltiples causas. Con la rara excepción de las hidrocefalias originadas por una superproducción de líquido cefalorraquídeo (LCR) por los plexos coroides, todas las demás son obstructivas. Dentro de éstas, las más frecuentes son las del tipo no comunicante, por obstrucción o estenosis del acueducto del Silvio (AS) durante el periodo prenatal (hidrocefalia congénita) o postnatal (hidrocefalia adquirida). Los mecanismos que originan la estenosis del AS y la subsecuente hidrocefalia son poco conocidos.

Utilizando técnicas histoquímicas e inmunocitoquímicas, hemos investigado dos modelos animales: uno con hidrocefalia experimental adquirida (ratas adultas por inyección de neuraminidasa de *Clostridium perfringens* en ventrículo lateral) y otro con hidrocefalia congénita (ratones mutantes *hyh*). En las ratas una única inyección de 10 µg de neuraminidasa provoca la destrucción y eliminación de las células ependimarias de los ventrículos laterales, tercer ventrículo, AS y de la zona más rostral del cuarto ventrículo. El AS aparece estenoso a las 4h postinyección y la hidrocefalia se manifiesta a los 4 días. Únicamente se observó gliosis en la pared telenocéfala dorsal del ventrículo lateral inyectado. Los ratones *hyh* muestran en el momento del nacimiento denudamiento ependimario en extensas áreas ventriculares y ausencia del canal central medular. Antes de los cinco días de vida postnatal se estenosa el AS y la comunicación entre el recesso colicular y el cuarto ventrículo. La hidrocefalia es manifiesta en los ventrículos laterales, tercer ventrículo y recesso colicular.

Es posible que la hidrocefalia obstructiva por estenosis del AS sea una consecuencia de alteraciones del epitelio ependimario.

Trabajo financiado por: FIS (95-1591), ICI y DGICYT (PB93-0979).

453 LESIONES MENINGOANGIOMATOSAS GANGLIOGLIOMAS Y GANGLIOCITOMAS ASOCIADOS A EPILEPSIA TEMPORAL. UN ESPECTRO DE LESIONES INTERRELACIONADAS.

S Ramón y Cajal-Agüeras, A Moreno, **J de Felipe.
Clínica Puerta de Hierro. **Instituto Cajal, Madrid.

Se distinguen varias entidades tumorales ó hamartomatosas, que están constituidas por una proliferación glial y células de estirpe neuronal. En las lesiones tipo meningoangiomatosis se describe desmoplasia meníngea e infiltración cortical por elementos fibroblásticos entremezclados con glia y neuronas. En los tumores ganglionares es frecuente la presencia de neuronas de diversos tamaños y de células gliales con/sin proliferación de meninges y desmoplasia.

En este trabajo, se presentan 14 lesiones asociadas a epilepsia temporal fármaco-resistente, diagnosticadas de meningoangiomatosis (6) y de gangliogliomas (8). La primeras mostraban una proliferación meningotelial y glial-neuronal con una proporción variable de los diversos componentes, con lesiones esclerosadas y otras más celulares. En todos ellos se detectó positividad para neurofilamentos, sinaptofisina y GFAP. Los gangliogliomas y los gangliocitomas mostraban celularidad mixta neuronal y glial y grados variables de afectación meníngea y vascular.

Del estudio histológico de las lesiones descritas se puede concluir que todas ellas tienen una dotación de células neuronales en diferentes estadios de maduración y de glia astrocitaria o oligodendroglial. En este trabajo se propone que las meningoangiomatosis, los gangliogliomas y los gangliocitomas pueden representar el mismo tipo de lesiones tumorales-hamartomatosas, con representatividad variable de los mismos elementos celulares, y desmoplasia cuando contactan con la superficie leptoméngea.

454 PATOLOGIA VASCULAR EN EL SINDROME DE SNEDDON CON DEMENCIA.

S. Ramón y Cajal-Junquera, L.F. Pascual, M.T. Villegas, M. Domínguez, M. Rubio.

Hospital Clínico Universitario. Facultad de Medicina. Zaragoza.

Introducción: El síndrome de Sneddon consiste en la asociación de lívido reticularis idiopática con accidentes cerebrovasculares y en ocasiones, con estados de demencia que en algunas series están presentes en el 50 % de los casos.

Caso clínico: Varón de 66 años con corea en la infancia y epilepsia desde los 20 años. ACV transitorios a los 28 y 30 años. Deterioro progresivo de 3 años de evolución. Se objetiva lívido reticularis en piel de tronco y extremidades y demencia. TAC cerebral: atrofia cortical intensa con infartos múltiples. Arteriografía cerebral y de manos: estenosis y dilataciones en arterias cerebrales medias y estenosis en arterias digitales.

En la biopsia de arteria digital se encontró engrosamiento parietal sobre todo a expensas de las capas íntima y adventicia. En la íntima se encontraron numerosas células miointimales englobadas en abundantes estroma precolágeno. Las fibras elásticas de la limitante interna aparecían desdobladas por hiperplasia. No se encontraron infiltrados inflamatorios ni depósito de inmunoglobinas.

Discusión: En este caso se observan cambios arteriales semejantes a los descritos por otros autores en casos de síndrome de Sneddon como es la hiperplasia íntima en forma de proliferación fibroelástica y de células miointimales con fibrosis de la adventicia. Todo ello sugiere que la arteriopatía del síndrome de Sneddon es una forma de arteriopatía obliterante degenerativa no inflamatoria, que afecta a vasos de mediano calibre cerebrales pudiendo causar demencia de tipo vascular. Su etiopatogenia no está suficientemente aclarada.

455 GIGANTOCITOSIS MICROGLIOTICITICA O DE CELULAS ECOSINOFILAS. PRESENTACION DE DOS CASOS.

L. Santa-Clara, M. Sánchez, H. del Pío, A. Soler. Hospital de Puerta del Hierro, Madrid.

El gigantocitosismo microglíotícitico, denominado también de células en anillo de sello, microglíotícitico o con oligodendrocitos plurinucleares, se ha atribuido inicialmente a oligodendrogliomas, de naturaleza primaria, por diversas aplicaciones broncaúscas.

Presentamos dos casos, correspondientes a una mujer de 25 años y un niño de 10 años con serias neoplasias de células gigantociticas microglíotícitas únicamente de astrocitomas. Ambos procesos resultaron a un nivel de sólo caso tras respectivamente, estudiándose en estos casos una morfología predominantemente oligodendroglíota, de alto grado en el primer caso, y con abundancia de células de aspecto gigantocitico en el segundo caso.

El origen de estos casos reside en el bajo frecuencia de presentación, atribuida en el diagnóstico diferencial por el aspecto microglíotícitico de las neoplasias correspondientes.

456

FORMA JUVENIL DE LA CEROIDOLIPOFUSCINOSIS REVISIÓN DE 8 CASOS
 *Sacristán I, Lejeune S, Navarro C. Hospital MEIXOBIRO, Vigo, Pontevedra. *Beauro L. I.S. H.A.E. 96/5505

Plantamiento Debido a la escasa frecuencia en España y a las dificultades diagnósticas que presentan las diversas formas de ceroidolipofuscinosis (CLF) revisamos los casos estudiados en nuestro hospital desde 1992, prestando especial atención a la clínica, a los métodos utilizados para su diagnóstico y a la rentabilidad de los diferentes tipos de biopsia.

Material y métodos Revisamos 9 casos con diagnóstico ultraestructural de CLF. De ellos, seleccionamos las formas juveniles y revisamos las H^e clínicas, las biopsias remitidas de cada caso y su estudio óptico y ultraestructural.

Resultados Encontramos 8 casos de CLF tipo juvenil. De ellos 5 corresponden a la forma elástica, 1 a la variante con depósitos granulares osmiofílicos (GROD), 1 a la variante juvenil temprana y 1 a la variante insidiosa. Desde el inicio de la clínica al diagnóstico definitivo, transcurrió una media de 8,2 años. En 4, los padres eran consanguíneos. De los 8 casos, en 3 se biopsia piel y músculo, en 2 sólo piel y en 3 sólo músculo. De los 3 con biopsia de piel-músculo combinada, en 2 se llegó al diagnóstico por el músculo y en 1 por la piel. Todos mostraron inclusiones ultraestructurales del tipo huella digital y mixtas (curvilíneas y granulares) excepto la variante con GROD que incluía exclusivamente depósitos granulares densos.

Conclusión En la CLF juvenil el diagnóstico suele ser tardío, debido a la instauración subaguda de sus diferentes síntomas. A pesar de su relativa escasa frecuencia, esta enfermedad debería considerarse en el diagnóstico diferencial en cualquier niño en edad escolar con déficit visual progresivo. Aunque con la biopsia muscular el diagnóstico es más rápido y fácil, la biopsia de piel que incluye glándulas sebáceas debería ser el tejido de elección.

Patología molecular (457 - 471)

458

PATRONES DE EXPRESION DE E-CADHERINA Y MOLECULAS ASOCIADAS (ALFA, BETA Y P120 CATENINAS) Y SU RELACION CON EL INCREMENTO DE LA CAPACIDAD DE DISEMINACION EN CANCER COLORECTAL.
 A Cañas A, Munné M, Fabrè J, Lloreta M, Gallèn S, Serrano FX, Reñé JMM, UAB. Hospital del Mar, Barcelona.

INTRODUCCION: Las cadherinas son proteínas transmembranales implicadas en la adhesión celular homotípica. Alteraciones en el mecanismo de adhesión celular se asocian in vitro a la adquisición de un fenotipo tumoral invasivo. Para que E-cad se funcional debe formar complejos activos con proteínas citoplasmáticas (cateninas) e interactuar con el citoesqueleto a nivel de las uniones adherentes.

DISEÑO: Con el objetivo de estudiar las relaciones entre las moléculas de adhesión y analizar si su distribución anormal se asocia a un incremento de la diseminación tumoral se efectuó un estudio inmunohistoquímico con el método de SAB-AP en material criopreservado en 42 carcinomas colorectales, valorando el tipo de distribución celular y la intensidad.

RESULTADOS: Alfa, beta y p-120 cateninas están relacionadas entre sí (p<0.05). E-cad muestra una asociación significativa con beta y p120 cateninas. De los 11 tumores que expresan E-cad únicamente en la membrana o en la membrana y citoplasma un solo caso desarrolló metástasis ganglionares y ninguno presenta metástasis sistémicas. De los 21 tumores con positividad exclusivamente citoplasmática 8 presentan metástasis ganglionares y 3 metástasis a distancia.

CONCLUSIONES: Estos hallazgos indican que en la evaluación de la positividad de E-cad debe tenerse en cuenta el patrón de distribución celular ya que la falta de localización en la membrana podría reflejar una alteración en la funcionalidad del complejo y se asocia a una mayor capacidad de diseminación metastásica en carcinoma colorectal. (Financiado Beca FIS 97/1216).

457

DETECCION DE CELULAS TUMORALES CIRCULANTES EN SANGRE PERIFERICA EN PACIENTES EN TRATAMIENTO POR SARCOMA DE EWING/TNEP
 E de Alava, MD Lecano, MA Ibañeta, J Fernandez, A Urribe, FJ Pardo-Mindán
 Clínica Universitaria de Navarra, Pamplona

Introducción La familia de los tumores de Ewing (TE) se define por la presencia en más del 95% de los casos de transcritos quimericos debidos a la fusión del gen *EWS* con el gen *FLI-1* o al *ERG*. Estos transcritos pueden detectarse en muestras clínicas mediante RT-PCR. El objetivo de este trabajo es el de evaluar la presencia de células de TE en muestras de sangre periférica (MSP) y relacionarla con la evolución clínica y el tratamiento en pacientes con TE.

Material y métodos Hemos estudiado 22 muestras de sangre periférica correspondientes a 14 pacientes con TE: 8 varones y 6 mujeres. La edad media era de 13,8 años. El tratamiento dura 1 año, en las primeras 7 semanas se administra radioterapia y con posterioridad se reseca el tumor. Las MSP se tomaron al menos 2 semanas después de la resección del tumor, de manera seriada cada mes. En 7 pacientes se obtuvieron muestras seriadas. Se extrajo el RNA mediante el método de Chomczynski. Para la amplificación de las fusiones *EWS-FLI1* y *EWS-ERG* se empleó RT con PDR en dos etapas (nested), seguida de Southern blot y secuenciación en todos los casos. En todos los pacientes se revisó el grado de necrosis y la presencia de transcritos quimericos en el tumor primario. Se realizó un estudio de las MSP score el que se buscaron células inmunoreactivas para CD33 (Q13).

Resultados En el momento de la primera MSP había 4 pacientes en remisión completa, 3 en progresión tumoral y 7 todavía dentro del protocolo de tratamiento. En 20 muestras se encontraron transcritos *EWS-FLI1* de tipo 1, y en una muestra *EWS-ERG*. Cuatro de las 5 muestras de los pacientes en remisión completa fueron negativas. Las cinco muestras extraídas de pacientes en progresión tumoral fueron positivas (1 de ellas para *EWS-ERG*, las otras 4 para *EWS-FLI1*). En 4 de los 7 pacientes con muestras seriadas las muestras inicialmente positivas se negativizaron con posterioridad. En 2 de ellos las muestras se mantuvieron positivas. En un paciente todavía en tratamiento, los resultados eran alternativamente positivos y negativos. En todos los casos en los que había RNA del tumor primario (4) el tipo de transcritos hallado en las MSP era similar al del tumor. De los casos en los que no se conservaron células viables en la resección ósea (2) 5 mostraban fusiones genéticas en la primera MSP. Los estudios de las MSP no mostraron células inmunoreactivas con CD33.

Conclusión Este puede ser el método de elección para detectar células tumorales circulantes en los TE. Nuestros datos preliminares sugieren que puede ser también útil para monitorizar el tratamiento, y que puede tener valor pronóstico. Queda por demostrar la trascendencia clínica de estos hallazgos. Trabajo subvencionado por una Beca de Investigación del Gobierno de Navarra y FIS 96/2102.

459 DEMOSTRACIÓN EN HÍGADO NORMAL HUMANO Y EN CARCINOMAS HEPATOCELULARES DE LA HORMONA DEL CRECIMIENTO (GH) Y PROLACTINA (PRL)

J. Forteza *, T. García-Caballero **, A. Lambert ***, H. Mertani ***, M. Fraga *, R. Gallego **, E. Pintos *, G. Morel ***
 * Anatomía Patológica Hospital Xeral Galicia, Santiago, Coruña
 ** Departamento de Ciencias Morfológicas Facultad de Medicina, Santiago Coruña.
 *** Institut Pasteur, Lyon, Francia.

Se estudia la hormona de crecimiento (GH) y la prolactina (PRL) ya que son dos hormonas íntimamente relacionadas por estar derivadas de un péptido primordial por duplicación génica y que su acción depende de la presencia de receptores específicos (GAR y PRLR). El interés del estudio de la GH y PRLR en líneas de tumores es por su participación en la cascada de fenómenos intracelulares que llevan a la proliferación celular. El estudio comprende la hibridación in situ y la semicuantificación de éste estudio con técnicas de inmunohistoquímica, realizándose el consiguiente estudio estadístico. La técnica de inmunohistoquímica es utilizada como complementaria de la hibridación in situ y relacionada con el análisis semicuantitativo del mRNA. Este estudio demuestra por dos métodos morfológicos complementarios (inmunohistoquímica e hibridación in situ) la expresión de GHR y PRLP y de sus genes en el hígado normal y en el carcinoma hepatocelular. Se encuentra un alto nivel por hibridación in situ de niveles de mRNA específico en hepatocarcinomas comparados con el hígado normal. Estos hallazgos muestran la evidencia de la acción directa de la GH y la PRL en el hígado normal y sugieren que en los hepatocarcinomas esta acción puede estar aumentada por elevada expresión.

461 ANÁLISIS MOLECULAR DEL GEN IgH MEDIANTE PCR EN 19 CASOS DE LINFOMA PRIMITIVO CEREBRAL.

Al Manzanal, M. García-Villanueva, P. San Miguel, A. Santón, M. Sancho, C. Bellas.
 Anatomía Patológica, Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

Los linfomas primitivos del sistema nervioso central (SNC) son neoplasias infrecuentes siendo la gran mayoría de ellos linfomas B de células grandes. La infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) ha aumentado la frecuencia de este tipo de linfomas extracerebrales siendo a menudo su diagnóstico difícil en estos pacientes. La demostración de una población B clonal es útil en el diagnóstico diferencial con los infiltrados linfocitos no neoplásicos también frecuentes en este último grupo de pacientes. El objetivo del presente trabajo fue estudiar la clonalidad en un grupo de 19 pacientes de linfomas cerebrales, de los cuales 6 estaban asociados a VIH.

La tipificación histológica determinó que 9 eran linfomas inmunoblásticos y 10 linfomas de célula grande sin especificar. El material disponible eran biopsias cerebrales de las cuales 8 eran biopsias estereotáxicas estando todas incluidas en parafina. Con técnicas estándar, se extrajo el ADN con el fin de analizar el gen IgH (cadena pesada de la inmunoglobulina) mediante la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) semiautomatizada utilizando una combinación de primers consenso para las regiones V_H: (FR3 y FR2) y J_H: (LJH y VLJH).

Con este método se detectó reordenamiento clonal para el gen IgH en un 75% de los casos estudiados, resultando el primer FR2 ligeramente más eficaz que el primer FR3 en cuanto a la detección. Si tenemos en cuenta su asociación con VIH, el 65 % de los casos asociados a la infección por el VIH resultaron clonales frente al 80 % de los casos de los pacientes inmunocompetentes en los que se detectó clonalidad.

463

Cellular and molecular factors involved in renal cell carcinogenesis

Nogueira E, Hostalet F, Carpio D and M. Martorell
 Servicio de Anatomía Patológica, Hospital General Universitario, Valencia

We present in outline some outstanding results on the development of renal cell tumors (RCTs) including adenoma and carcinoma. The review deals mainly with cellular and molecular findings raised on murine and avian RCTs induced by chemicals and retroviruses as well as on hereditary mouse RCTs.

Animal models of kidney tumors have proved to be adequate for investigations on cellular and molecular factors involved in renal carcinogenesis. Thus, for example, the precise cellular origin of several types of animal RCTs could be clearly established by demonstration of direct transition into unaltered renal tubules of tumor epithelium as well as by identification of tubules partly lined by tumor-like cells, the first stages of the tumor-development continuum under the microscope resolution.

The existence of closely related counterparts of these animal RCTs in man will be presented with emphasis in tumors arising from the collecting duct system. Recent results on rat RCTs will be described, which have not only contributed to increase knowledge on tumor development but also stimulate interest for histogenesis of human RCTs. These data have prompted the recognition of the human RCT of chromophobic cells and the collecting duct origin of renal oncocytomas.

460 INESTABILIDAD DE MICROSATÉLITES Y PÉRDIDA DE HETEROGIGOSIDAD EN MELANOMAS PRIMARIOS.

E. Gomborno, M. Lareu* y A. Carracedo*
 Servicio de Anatomía Patológica, Complejo Hospitalario Universitario Instituto de Medicina Legal, Universidad de Santiago* Santiago de Compostela La Coruña

Estudios recientes sugieren que la inestabilidad genómica resultante de defectos en el control del ciclo celular sumada al efecto de los agentes que dañan el ADN, juega un papel crítico en la acumulación de mutaciones en la célula. Esta inestabilidad se evidencia en las células neoplásicas por cambios en la longitud de las secuencias repetitivas simples distribuidas por todo el genoma. Este mecanismo se ha descrito en pacientes con cáncer de colon familiar no polipósico en los que obedece a mutaciones en línea germinal en los genes reparadores de "mismatch" (hMSH, hMLH1,...). Paralelamente el análisis de microsátélites permite analizar la presencia de pérdida de heterocigosidad (LOH).

Con el objeto de estudiar la importancia de estos mecanismos en el desarrollo y progresión del melanoma, hemos seleccionado 25 biopsias de pacientes con melanoma así como muestras de tejido sano pertenecientes a esos mismos pacientes. En cada una de las parejas hemos amplificado mediante PCR los microsátélites siguientes HUMTH01 (11p15.5-p16), HUMVWA31/A (12p12-12pter), HUMF13A1 (6p24-p25) y HUMFES/FPS (7p25-pter) y analizado los fragmentos obtenidos mediante un secuenciador automático contra "ladders" alélicos secuenciados.

En 3 de las 25 parejas analizadas se observaron pérdidas de heterocigosidad en uno o varios sistemas. En un solo caso se encontró inestabilidad de varios microsátélites con expansiones o reducciones del número de repeticiones.

Podemos concluir así que la inestabilidad de microsátélites secundaria a mutaciones en los genes reparadores de "mismatch" no parece ser un mecanismo precoz en el desarrollo del melanoma. El caso encontrado así como los 3 casos con LOH reflejan más bien la desestabilización general de la célula durante el proceso de progresión tumoral.

462 INESTABILIDAD GENÉTICA Y MUTACIONES DE P53 EN CÁNCER DE COLON. DIFERENTES IMPLICACIONES Y CORRELACION CLINICOPATOLÓGICA EN COLON DERECHO E IZQUIERDO.

A. Moreno, M. Leonart, G. Martínez, C. Corbacho, C. Salas, A. Anaya y S. Ramón y Cajal Agüeras
 Clínica Puerta de Hierro, Madrid.

Los carcinomas de colon de lado derecho e izquierdo, pueden manifestar diferentes características clínicas, patológicas y alteraciones oncogénicas.

Hemos analizado 111 casos de carcinomas de colon, 63 de localización en el lado izquierdo y 48 en el lado derecho. Las mutaciones de p53 se han estudiado por PCR en los exones del 5 al 8. Los productos de PCR se analizaron por SSCP en geles de poliacrilamida y secuenciación directa; así mismo las muestras se analizaron por inmunohistoquímica. La inestabilidad genética se ha estudiado en 5 microsátélites del cromosoma 15 cercanos al gen DCC. Los porcentajes de mutaciones de p53 por SSCP, han sido 43.7% y 34.9% en cáncer de colon derecho e izquierdo respectivamente. Sólo en cáncer de colon derecho existe una elevada correlación de mp53 con ganglios metastásicos, a diferencia de los casos de cáncer de colon izquierdo (p=0.05). La coexistencia de mutaciones de p53 e inestabilidad genética se correlaciona con la existencia de ganglios afectados con metástasis en colon derecho. La correlación de mutaciones de p53 por SSCP con las técnicas inmunohistoquímicas no es elevada, detectando las mayores diferencias en cáncer de colon izquierdo. La inestabilidad genética fue de 27.37% y 13.8% en cáncer de colon derecho e izquierdo respectivamente, y en colon derecho existe correlación con el tamaño del tumor, donde se detecta inestabilidad genética hasta en el 40% de los tumores mayores de 4 cm.

La marcada correlación entre inestabilidad genética y el tamaño del tumor en colon derecho apunta a una mayor susceptibilidad a dichas alteraciones en colon derecho. La coexistencia de inestabilidad genética y mutaciones de p53 en cáncer de colon derecho con metástasis ganglionares pueda representar un subgrupo de peor pronóstico. Por tanto, se concluye que en los cánceres de colon derecho e izquierdo hay diferencias moleculares significativas que pueden traducir diferentes mecanismos carcinogénicos.

464 DETECCIÓN DE ARNm DE CADHERINA E MEDIANTE RT-PCR EN LOS PRODUCTOS DE AFÉRESIS DE SANGRE PERIFÉRICA DE PACIENTES CON CARCINOMA DE MAMA.

J. Palacios, N. Benito, J. Pinilla, E. Ojeda, F. Hernández, C. Gamallo.
 Hospital La Paz, Madrid.

Planteamiento: La detección de células neoplásicas circulantes en pacientes con cáncer de mama puede ser de interés para establecer el pronóstico y tratamiento. Con tal objetivo, hemos desarrollado un sistema de detección del ARNm de cadherina E (Cd-E, una molécula de adhesión expresada preferentemente en células epiteliales normales y neoplásicas) mediante RT-PCR.

Pacientes y métodos: Se realizó extacción de ARN total de productos de aféresis de sangre periférica de 15 pacientes con cáncer de mama en estadio III-IV sometidas a trasplante de células precursoras autólogas. Tras la transcripción en reverso, se realizó PCR para amplificar un fragmento de 543 pb del ADNc, correspondiente a la porción extracelular de la Cd-E. Para aumentar la sensibilidad y especificidad del ensayo, los productos de las amplificaciones se sometieron a hibridación in filtro con una sonda específica.

Resultados: Se detectó la presencia de ARNm de Cd-E en 9 pacientes, lo que indicaba la presencia de células neoplásicas circulantes.

Conclusiones: La realización de RT-PCR de Cd-E en productos de aféresis es un método útil para detectar células neoplásicas circulantes. Estudios futuros determinarán su posible uso en otras situaciones clínicas, tales como la detección de células circulantes en el momento del diagnóstico del cáncer de mama.

465

ASTROCITOMAS PEDIÁTRICOS: MUTACIONES Y PERDIDA DE HETEROCIGOSIDAD DEL GEN P53.
A Payá, C Orellana, J Tudela, M Hernández,
Hospital Universitario "La Fe", Valencia.

Los astrocitomas representan el 60 % de los tumores cerebrales primarios pediátricos. Estudios citogenéticos de astrocitomas pediátricos no han podido demostrar una anomalía recurrente citogenética que los caracterice. En cambio, son frecuentes en los astrocitomas del adulto las delecciones del 17p y las mutaciones del gen p53.
En el presente trabajo hemos estudiado 13 astrocitomas infantiles (7 de bajo grado, 4 de alto grado y 2 xantastrocitomas pleomórficos). Analizamos mutaciones del gen p53 (exones 5-8) mediante SSCP's con posterior secuenciación así como pérdida de heterocigiosidad utilizando un microsatélite intragénico (p53 CA).
Detectamos mutaciones en dos casos (1 astrocitoma anaplásico y 1 xantastrocitoma pleomórfico, éste con dos mutaciones), pérdida de heterocigiosidad del locus p53 en 3 casos (2 astrocitomas anaplásicos y 1 glioblastoma multiforme) e inestabilidad de microsatélites en el xantastrocitoma pleomórfico con mutaciones.
En conclusión, las mutaciones de p53 en astrocitomas pediátricos se producen probablemente durante la progresión tumoral, no siendo un evento primario. Este hecho es sugerido por ausencias de alteraciones del gen en los casos de bajo grado.

466

SV40-like DNA sequences in human tumors
Perez A, Carpio D, Castresana J, Hostalet F, Martínez C,
Nogueira E and Martorell J
Servicio de Anatomía Patológica, Hospital General Universitario, Valencia
Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid

Simian virus 40 (SV40) and a few related polyomavirus strains are oncogenic in rodents, SV40 giving rise to high numbers of ependymomas and mesotheliomas in hamsters. These findings stimulated a search for association of polyomavirus strains with human neoplasia that led to identification of SV40 and SV40-like DNA sequences in significant rates of ependymomas, choroid plexus tumors, mesotheliomas and osteosarcomas (Bergsagel et al., *N Engl J Med* 1992;326:988-992; Carbone et al., *Oncogene* 1996;13:527-535).
In the current study we are seeking to determine whether SV40 is linked to the development of various tumor types. To this end, first we analyzed genomic DNA from tumor tissue by PCR-based amplification of a specific short stretch of the SV40 DNA region coding for the nuclear large-T antigen (Tag). Specificity of the amplified DNA is further established by Southern blotting with a SV40 probe as well as by Nucleotide Sequencing. With this procedure we have detected SV40 sequences in 6/6 ependymomas and in 7/7 osteosarcomas, confirming the high viral occurrence in these tumor types. Most important, we have also identified increased presence of SV40 Tag DNA in samples of neuroblastoma (1/37) and various sarcoma types including chondrosarcoma (4/5), liposarcoma (7/7) and malignant fibrosarcoma (1/11). We are now examining the significance of our findings by investigation of both larger tumor series and the expression of SV40 Tag with RT-PCR and immunocytochemical methods.

467

ASOCIACIÓN DEL VIRUS DE EPSTEIN-BARR (VEB) Y EL CARCINOMA NASOFARÍNGEO (CNF): estudio inmunohistoquímico y molecular de 30 casos.
G Plaza, A Santón, L Fogué, JC Martínez, C Bellas.
Hospital Ramón y Cajal, Madrid.

La relación del VEB con el CNF se sospechaba hace años dada su correlación con los anticuerpos frente al virus, pero ha sido recientemente confirmada al haberse demostrado la presencia del VEB en muestras histológicas de CNF, mediante técnicas moleculares, como la PCR, de gran sensibilidad y la hibridación in situ para ARN viral, de gran precisión localizadora de la población tumoral. Así, en los CNF, independientemente de su grado de diferenciación, se ha demostrado una infección por el VEB, que muestra un patrón de latencia de tipo II, con expresión únicamente de dos proteínas virales (EBNA-1 y LMP-1) y ARN viral (EBERs).

En este trabajo se analizan las características clínicas (edad, sexo, sintoma de presentación, respuesta al tratamiento), histológicas (tipo histológico según la OMS) e inmunohistoquímicas (expresión de la proteína viral LMP-1) de 30 casos de CNF. Se realizó además, la detección de secuencias de VEB mediante hibridación in situ para EBERs (ARNs del VEB) y estudio molecular mediante PCR del gen TC60-61, para la detección del ADN del virus.

Histológicamente, hemos encontrado 24 casos (80%) de CNF indiferenciado (OMS tipo III), 2 de tipo II y 4 de tipo I. Siguiendo a Hsu, 9 casos de CNF indiferenciado eran de alto grado y 11 de bajo grado, siendo los cuatro restantes mixtos o fusiformes. El estudio inmunohistoquímico confirmó la positividad para LMP-1 sólo en 12 casos (40%). En cambio, la expresión de EBERs se observó en 28 casos (93%). La detección del VEB por PCR fue posible en 27 de los 30 casos (90%).

En conclusión, en nuestros pacientes, el CNF muestra alta asociación con una infección por el VEB, con un patrón de latencia de tipo II (EBERs y LMP-1), pero con baja expresión de LMP-1, el método más específico para su detección es la hibridación in situ para EBERs.

468

VALOR DE LA EXPRESIÓN DE P53 EN GLIOMAS MEDIANTE INMUNOHISTOQUÍMICA Y PCR-SSCP
Rodríguez-Pereira, P, Barros M, Sureda AJ, Suarez-Villa ML,
Abadles, J, García-Caballero y Forteza
Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela

Introducción: El papel de P53 en los gliomas es motivo de discusión. Se ha atribuido un peor pronóstico a los tumores portadores de mutaciones. Para algunos, dichas mutaciones surgirían en astrocitomas de bajo grado, e indicarían progresión a alto grado. Otros las encuentran principalmente en glioblastomas. Su valor como factor pronóstico no está claro. Por otra parte es frecuente encontrar sobreexpresión inmunohistoquímica de P53 nativa en gliomas, y tampoco a esto se le ha encontrado una explicación adecuada. Estudiamos la P53 en gliomas, buscando mutaciones y/o sobreexpresión de P53 nativa, combinando inmunohistoquímica y PCR-SSCP.

Materiales y métodos: Se estudian 57 gliomas (20 astrocitomas, 9 astrocitomas anaplásicos, 24 glioblastomas, 2 oligodendrogliomas y 2 gliomas mixtos). El material se procesó según procedimientos de rutina. Se obtuvieron cortes de 10 micras y se seleccionaron áreas adecuadas de parafina tumoral para extracción de DNA. Se amplificaron los exones 5 a 8 de p53 por PCR y se realizó screening de mutaciones mediante análisis SSCP. Se obtuvieron también secciones apropiadas para la realización de la técnica IHC ("streptavidina-biotina complex"), usando el anticuerpo monoclonal DO-7, que detecta P53 nativa y mutante. La cuantificación se hizo mediante un analizador CAS-200, midiendo en este caso el porcentaje de núcleos positivos sobre un total de 500.

Resultados: Se detectaron 7 mutaciones (12%) mediante análisis SSCP: 2 en astrocitomas (exones 6 y 8), 1 en un astrocitoma anaplásico (exón 7), y 4 en glioblastomas (exones 6 (3) y 5); 6 pacientes con mutaciones de p53 fallecieron. 27 (47%) pacientes mostraron inmunoreactividad para P53. 7 casos eran astrocitomas, 6 astrocitomas anaplásicos, 11 glioblastomas, 1 oligodendroglioma y 2 gliomas mixtos. 15 pacientes con inmunoreactividad para P53 murieron. El total de pacientes fallecidos fue de 23. 6 casos con mutaciones de P53 presentaban también inmunoreactividad. El seguimiento osciló entre 1 y 101 meses (media 14 meses).

Conclusiones: No se encontró una relación estadísticamente significativa entre la presencia de mutaciones o la inmunoreactividad con la supervivencia. Asimismo, hemos detectado una mayor positividad inmunohistoquímica para P53, no relacionada con mutaciones y que probablemente corresponden a sobreexpresión de P53 nativa.

469

BCL-2 expression and rearrangement: Distinction of follicular hyperplasia from follicular lymphoma

Sabater V, Ochoa E, Blesa J, Carpio D, Nogueira E and M Martorell
Servicio de Anatomía Patológica, Hospital General Universitario, Valencia

The existence of conflicting reports on the significance of BCL-2 gene expression and rearrangements as markers for follicular lymphoma led us to search for BCL-2 protein expression and BCL-2/JH rearrangements in follicular hyperplasia and follicular lymphoma.

Studies were undertaken with formalin-fixed, paraffin-embedded biopsy specimens from 19 hyperplastic tonsils and 13 follicular lymphomas as well as from 11 cases of Hodgkin's disease. Expression of BCL-2 was investigated immunocytochemically with a monoclonal antibody, and the BCL-2/JH rearrangements were analyzed by PCR analysis and direct sequencing of the junctional region of BCL-2 (at the major break point) with the JH sequences of the immunoglobulin gene.

Reactivity to the BCL-2 antibody was entirely absent from the reactive hyperplastic follicles of tonsils but exhibited by the neoplastic follicles of all cases of follicular lymphoma. Positive immunostaining was also shown by one case of Hodgkin's disease in Reed-Sternberg and atypical mononuclear cells. As to BCL-2/JH rearrangements, they were only identified by both PCR and direct sequencing in 9 of 13 (69.2 %) follicular lymphomas. Our results thus point to the utility of data from BCL-2 expression and BCL-2/JH rearrangements to distinguish follicular lymphoma from follicular hyperplasia.

470

ANÁLISIS MOLECULAR E INMUNOHISTOQUÍMICO DEL GEN DE LA CICLINA D1 (CCND1) EN EL CÁNCER DE MAMA. CORRELACIÓN CON EL GRADO HISTOLÓGICO, LOS RECEPTORES ESTROGENICOS Y LA PROTEÍNA P53 Y EL ÍNDICE DE PROLIFERACIÓN CELULAR.

M Sánchez, A Martínez, H Martínez, P San Miguel, R Vázquez, F González-Pedreño, C Bellas
Hospital Ramón y Cajal, Madrid

Objetivos: Los objetivos de este estudio son el análisis molecular del gen de la ciclina D1 (CCND1) y de la expresión inmunohistoquímica de la proteína ciclina D1 en una serie de carcinomas infiltrantes de mama y su posible relación con los parámetros histológicos e IHC con reconocido valor pronóstico.

Material y Métodos: El material de este estudio son 55 carcinomas infiltrantes de mama (CIM). El estudio molecular se realizó en material histológico congelado mediante PCR diferencial (PCR-D), utilizando primers para el gen CCND1 y para el gen del receptor de la dopamina. La alteración de la amplificación del gen se realizó mediante una aplicación informática específica con el fin de obtener los rasgos de ciclina D1/receptor dopamina.

El estudio IHC se realizó en secciones de parafina estudiándose la expresión de ciclina D1, de la proteína P53, los receptores estrogénicos y el índice de proliferación celular mediante el método ABC. La cuantificación del estudio IHC se realizó utilizando el Sistema Computarizado de Análisis de Imagen (CAS-200).

La gradación histológica se realizó en secciones de tejido neoplásico incluido en parafina utilizando el sistema de Nottingham/Tenovus.

Resultados: Se observó sobreexpresión de ciclina D1 en un 50% de los casos detectándose amplificación génica 22% de los mismos.

El análisis univariante (test de Fisher) no demostró asociación con resultado significativa entre la expresión de ciclina D1 y el resto de los parámetros histológicos e IHC.

Conclusiones: No siempre que hay sobreexpresión de la ciclina D1 hay amplificación del gen, lo que sugiere la existencia de otros mecanismos implicados en el aumento de la expresión de la misma.

La alta frecuencia de sobreexpresión de la ciclina D1 sugiere que podría tener un papel importante en el desarrollo del carcinoma de mama.