



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
: 57 U @ 158 ' 89 ' A98 7 - B5 '

INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA
MANUEL VELASCO SUAREZ

RELACIÓN DE LA VARIANTE rs5050 DEL GEN AGT CON EL RIESGO Y
PRONÓSTICO DE PACIENTES CON ASTROCITOMA

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA
EN NEUROCIRUGÍA**

PRESENTA

DR. ALEXANDER PERDOMO PANTOJA

TUTOR DE TESIS

DRA. TALIA WEGMAN OSTROSKY



Ciudad de México, Julio 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



DR. PABLO LEON ORTIZ
DIRECTOR DE ENSEÑANZA

DR. JUAN LUIS GOMEZ AMADOR
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE NEUROCIRUGÍA

DRA. TALIA WEGMAN OSTROSKY
TUTOR DE TESIS



DR. JUAN LUIS GÓMEZ AMADOR
CO-TUTOR DE TESIS

DRA. SONIA ILIANA MEJÍA PÉREZ
CO-AUTORA DE TESIS

Agradecimientos.

A Dios, por iluminarme siempre, a mi y a mi camino.

A mis Padres y a mi Hermana. Todos mis pasos y mis logros han sido para ustedes, para que el pecho se les infle de orgullo. Los amo, y no habrá palabras suficientes para agradecerles. Soy lo que soy gracias a ustedes. Espero que me alcance la vida para poderles regresar aunque sea un poco de todo lo que me han dado.

Al Dr. Gómez Amador, por abrirme las puertas del INNN, el que será siempre mi casa. Gracias por su confianza, por impulsarnos a ser mejores y por ser nuestra guía a lo largo de estos años. A mis maestros, por sus enseñanzas, consejos y apoyo incondicional, no sólo para el mundo de la Neurocirugía, sino también para la vida.

A Talia Wegman, por invitarme a formar parte de este equipo de trabajo, por su comprensión, por su paciencia, y por recordarme que siempre se puede hacer mejor las cosas. A mi Son, por ser como mi segunda madre desde que nos conocimos, gracias por tu amistad, por tus consejos, y por siempre procurarme.

A mi Montse, por ser quien eres. Gracias por caminar a mi lado y por compartir este sueño. Gracias por animarme, por impulsarme a ser mejor, por dibujar una sonrisa en mi cara y por enseñarme a creer que todo es posible si pones tu corazón en ello.

A mis amigos, por estar y seguir conmigo a pesar del tiempo y de la distancia, por esos momentos que hemos pasado juntos, y por los que vendrán. Gracias por escucharme, leerme, aconsejarme, reír conmigo, y ser incondicionales. A mis Compañeros y amigos de generación (George, Juanjo, Tay, Sam), por los buenos y malos momentos que pasamos durante estos años, por aprender juntos y por ser siempre dignos de mi admiración.

Y a las personas que de manera voluntaria ó involuntaria han estado a lo largo de mi camino y que me han ayudado a estar donde ahora estoy, gracias.

CONTENIDO

Abreviaturas	7
Resumen	8
Marco Teórico	9
Introducción	9
Los Astrocitomas	10
Los Marcadores Moleculares en Astrocitomas	12
El Sistema Renina Angiotensina (SRA)	14
Justificación	19
Planteamiento	19
Pregunta de Investigación	19
Hipótesis	20
Objetivos	20
Material y Métodos	20
Resultados	23
Discusión	33
Conclusiones	36
Referencias	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación molecular, pronóstica y con implicación predictiva de los biomarcadores en gliomas de alto grado de adultos.

Figura 2. Modelo Clásico del Sistema Renina Angiotensina (SRA).

Figura 3. Sistema Renina Angiotensina en el Cerebro.

Figura 4. Balance entre los efectos del SRA en la tumorigénesis.

Figura 5. Gen *AGT*, mRNA, y Proteína.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características Clínicas.

Tabla 2. Frecuencias Genotípicas de Casos y Controles.

Tabla 3. Frecuencias Génicas de Casos y Controles.

Tabla 4. Agrupación de Casos y Controles en modelos con G como alelo de riesgo.

Tabla 5. Asociación de variante rs5050 con riesgo para astrocitoma.

Tabla 6. Tabla de contingencia, relación entre Estado actual y polimorfismo de *AGT*.

Tabla 7. Tabla de contingencia, relación entre Estado actual y Alelo G como dominante.

Tabla 8. Tabla de contingencia, relación entre Estado actual y Alelo G como recesivo.

Tabla 9. Tabla de contingencia, relación entre Estado actual y Alelo G como Codominante.

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer de polimorfismos de *AGT* rs5050.

Gráfica 2. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer de *AGT* rs5050 como Dominante.

Gráfica 3. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer de *AGT* rs5050 como Recesivo.

Gráfica 4. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer de *AGT* rs5050 como Codominante.

Gráfica 5. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Grado de la OMS.

Gráfica 6. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por KPS.

Gráfica 7. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Grado de Resección.

Gráfica 8. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Radioterapia.

Gráfica 9. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Quimioterapia.

Gráfica 10. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Tabaquismo.

Gráfica 11. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Consumo de Alcohol.

Gráfica 12. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Síntoma Inicial.

Gráfica 13. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Historia Familiar de Cáncer.

ABREVIATURAS

OMS, Organización Mundial de la Salud

GBM, Glioblastoma Multiforme

TMZ, Temozolamida

SRA, Sistema Renina Angiotensina

AGT, Angiotensina

SNC, Sistema Nervioso Central

IRM, Imagen de Resonancia Magnética

AA, Astrocitoma Anaplásico

KPS, Índice de rendimiento o de valoración funcional de Karnofsky

MGMT, O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase, O⁶ Metil Guanina Metil Transferasa

IDH, Isocitrate Dehydrogenase, Isocitrato Deshidrogenasa

EGFR, Epidermal growth factor receptor, Receptor de factor de crecimiento epidérmico

G-CIMP, Glioma-CpG island methylator phenotype, fenotipo metilador de islas CpG

LOH, Loss of Heterozygosity, Pérdida de Heterocigosidad

TCGA, The Cancer Genome Atlas, El Atlas del Genoma del Cáncer

LGG, Low-Grade Glioma, Glioma de Bajo Grado

HGG, High-Grade Glioma, Glioma de Alto Grado

TP, Tumor Protein, Proteína Tumoral

ADN, Ácido Desoxirribonucleico

RT, Radioterapia

RCT, Randomized Clinical Trial, Estudio Clínico Randomizado

2-HG, 2-hydroxyglutarate, 2-hidroxiglutarato

Alpha-KG, alpha-ketoglutarate, alfa-cetoglutarato

NADPH, Nicotinamide adenine dinucleotide, dinucleótido de adenina nicotinamida

NCCN, National Comprehensive Cancer Network, Red Nacional Integral del Cáncer

AngI, Angiotensina I

AngII, Angiotensina II

ECA, Enzima Convertidora de Angiotensina

AT1R, Angiotensin II receptor type 1, receptor tipo 1 de la angiotensina II

AT2R, Angiotensin II receptor type 2, receptor tipo 2 de la angiotensina II

UNAM, Universidad Nacional Autónoma de México

SNP, Single Nucleotide Polymorphism, polimorfismo de un simple nucleótido

RESUMEN

Antecedentes: Los Gliomas son los tumores primarios intrínsecos más frecuentes del sistema nervioso central en la población adulta mundial. Se han estudiado diversos biomarcadores diagnósticos, de riesgo y de pronóstico en gliomas, la mayoría determinados en tejido tumoral. Se ha descubierto que el Sistema Renina Angiotensina (SRA) posee, además de su función sistémica, una función local ó paracrina. En el contexto de esta acción local, la expresión de los componentes del SRA y de los polimorfismos del *AGT* han sido ligados a algunos tipo de cancer.

Objetivo: Determinar la relación entre la variante rs5050 de *AGT* en sangre con el riesgo y pronóstico en astrocitoma. **Material y Métodos:** Estudio analítico prospectivo.

Se incluyeron 48 pacientes con diagnóstico de astrocitoma primario por histopatología, sin tratamiento previo, tratados con cirugía por fines terapéuticos y/o diagnósticos, mayores de 18 años y ambos sexos, en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de 2012-2015. La determinación del gen *AGT* y de sus variables genotípicas en sangre fueron por secuenciación masiva por medio del ION torrent, con una profundidad mínima de 100x. La información clínica de los sujetos en estudio fue obtenida de expedientes clínicos. Los resultados principales fueron el riesgo y la sobrevida.

Resultados: En el análisis de la sobrevida se encontró significancia en el patrón de herencia recesivo del *AGT* rs5050 tomando al alelo G como de riesgo. Los marcadores clínicos de edad, de grado histológico y de KPS se relacionaron con sobrevida.

Conclusiones: En el presente análisis, hay evidencia insuficiente que relaciona a *AGT* rs5050 con el riesgo de astrocitoma. *Se identifica asociación significativa entre la sobrevida y el patrón de herencia recesivo del AGT rs5050.* Se observó la aparición de astrocitoma a edades más tempranas en nuestra población. Debido al resultado de nuestro estudio y a la evidencia conocida previa al mismo, se propone aumentar la población para confirmar de manera definitiva al *AGT* rs5050 como marcador de riesgo y pronóstico.

Palabras Clave: Gliomas, Biomarcadores, Sistema Renina Angiotensina, Angiotensinógeno, Pronóstico.

MARCO TEÓRICO

Introducción

Los gliomas son el tipo de neoplasia intrínseca del sistema nervioso central más común, siendo más frecuentes en los adultos que en los niños. Estos tumores gliales pueden ser divididos de manera general en dos grupos, dependiendo del grado de invasión al parénquima cerebral que los rodeen. Así tenemos un primer subgrupo de tumores gliales que conservan ciertos límites y son circunscritos; mientras que en el segundo subgrupo es difícil distinguir sus bordes difusos con respecto al tejido nervioso que lo rodea. Esta naturaleza infiltrativa que los gliomas difusos comparten, ha conducido a considerarlos como una enfermedad sistémica, más que focal, de todo el cerebro. La resección extensa total de los gliomas difusos no evitan su recurrencia (1).

Estos gliomas difusos muestran recurrencia, junto a la característica de progresar con el tiempo desde grados bajos (grado II de la OMS) a grados altos (grado III de la OMS) y hasta Glioblastomas (GBM) secundarios (grado IV de la OMS). Por ello, los objetivos más importantes en la actualidad de la Neurocirugía con este tipo de tumores son el realizar una citorreducción lo más amplia posible, y obtener tejido tumoral para un diagnóstico certero (2). El GBM es considerado incurable a pesar de un manejo agresivo, con una pronóstico malo y con una morbilidad significativa, con un promedio de supervivencia de 14.6 meses con tratamiento multimodal, basado en resección quirúrgica total, con radioterapia adyuvante y quimioterapia con Temozolamida (TMZ) (3). Debido a la falta de resultados duraderos, es necesario el investigar nuevas maneras de abordar este tipo de tumores, tanto en su diagnóstico como en su tratamiento, siendo hasta el momento la búsqueda de blancos moleculares el campo más prometedor (2). Existen varios genes que han sido propuestos como marcadores biomoleculares de agresividad de la enfermedad, que aportan pistas sobre la fisiopatología de estos tumores, y se perfilan como blancos potenciales en su terapéutica (4). Sin embargo, la gran parte de estos marcadores en GBM son detectados directamente en tejido tumoral, y no en sangre como en algunos otros tipos de tumores en que la detección de ciertas proteínas circulantes sirven como auxiliares en la toma de decisiones clínicas con los pacientes, aportando información valiosa para el diagnóstico diferencial, el pronóstico y la respuesta al tratamiento empleado (5).

Se han propuesto en los últimos años los múltiples mecanismos o “hallmarks”, diez hasta ahora, que explican de manera lógica el complejo proceso de patogénesis de las

células tumorales, por el cual van adquiriendo los rasgos o atributos que les darán su capacidad para generar tumores y su malignidad (6). Estos mecanismos o “hallmarks” se encuentran en relación con varias vías bioquímicas que han sido objetivo de estudio, siendo ahora sumado a esta lista el Sistema Renina-Angiotensina (SRA) (7). Clásicamente, el SRA se ha estudiado como parte fundamental de la homeostasis cardiovascular; sin embargo, ahora se ha descubierto que desempeña un papel en la regulación paracrina en algunos órganos (hígado, riñón, cerebro, páncreas, órganos reproductores), un papel a nivel local diferente al ya conocido a nivel sistémico. Esta regulación paracrina a nivel local es la que se ha relacionado con la carcinogénesis (8). Se ha demostrado que existe una relación entre la regulación anómala del gen *AGT* y del SRA con la malignidad en algunos tipos de tumores, así como con la mala evolución de estos pacientes, esto visto en estudios *in vitro* e *in vivo*. E incluso, en estudios retrospectivos y experimentales, se ha comprobado que el uso de antagonistas del SRA confieren un factor protector para el cáncer, disminuyendo además el crecimiento tumoral, el desarrollo de metástasis, y disminución de la angiogénesis (9). Se ha demostrado *in vitro* que el gen *AGT* humano posee un polimorfismo (el *AGT*-20 A/C ó rs5050) en su región promotora, localizado entre la caja TATA y el sitio de iniciación de la transcripción, en donde un elemento regulador en cis es fundamental en la tasa de transcripción basal del gen; es decir, que el polimorfismo rs5050 (*AGT*-20) encamina a diferencias en la actividad del promotor, y esto a su vez en la transcripción del gen. Esto ha sido consistente con otros estudios que han encontrado correlación entre este polimorfismo de un simple nucleótido (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) y algunos haplotipos que lo contienen, y el nivel de *AGT* en sangre (10-12). Además se ha vinculado *in vivo* al polimorfismo *AGT* rs5050 con un riesgo incrementado de desarrollo de cáncer gástrico (13).

Basados en esta evidencia, y en los estudios realizados por nuestro equipo de investigación sobre algunas variantes del gen *AGT* en pacientes con glioma (14), se busco en el presente trabajo estudiar la relación de la variante rs5050 con el riesgo y pronóstico de los pacientes con astrocitomas malignos.

Los Astrocitomas

Los gliomas cuentan con la mayoría de neoplasias malignas del SNC, incluyéndose principalmente en este grupo los Astrocitomas, los Oligodendrogliomas, y los Ependimomas, entre otros (15). A pesar de que el origen celular de los diferentes tipos de tumores se desconoce y es deducido, son nombrados de acuerdo a las características y similitudes que las células tumorales presentan en su morfología con respecto a las células normales, por ejemplo los astrocitomas con los astrocitos (16).

Desde el punto de vista clínico, el clasificar a los tumores es un intento por predecir el comportamiento de los mismos, y su respuesta a la cirugía y a los tratamientos adyuvantes. Es por ello que esta escala de malignidad se ha mantenido y se ha modificado desde la primera edición de la clasificación de la OMS de los tumores del SNC. Esta clasificación de malignidad comprende una escala ascendente de cuatro grupos, en la cual cada grado posee propiedades predecibles y que son sucesivas de grado a grado. El grado I se refiere a lesiones con baja tasa de proliferación que son presumiblemente curables con resecciones completas sin necesidad de tratamientos adyuvantes; el grado II hace referencia a lesiones de naturaleza infiltrante, con baja proliferación, pero con cierta tendencia a recurrir; el grado III son lesiones que presentan atipia nuclear y actividad mitótica, características de malignidad, por lo que generalmente se da radioterapia y quimioterapia posterior a la cirugía; y el grado IV se reserva a aquellos tumores que además de la atipia nuclear y de la actividad mitótica, presentan necrosis y proliferación microvascular, así como una progresión rápida de la enfermedad, a pesar de la cirugía y del tratamiento adyuvante. Algunos de los tumores grado IV presentan, sin ser obligado para este grado, infiltración extensa al parénquima circundante y una alta tendencia a diseminarse por líquido cefalorraquídeo. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que el grado de malignidad representa solo un criterio asociado a otros, tales como la edad del paciente ó su estado clínico, para predecir la respuesta al tratamiento y su supervivencia (17). Extrapolando esta escala de malignidad a los gliomas, podemos agrupar a los Grado I y II como de Bajo Grado (Low-Grade Gliomas, LGG), y al Grado III y IV como de Alto Grado (High-Grade Gliomas, HGG). De los gliomas, el 55% son GBM, con una incidencia de 3.2 casos por cada 100,000 habitantes por año. La edad promedio más afectada por esta patología va de acuerdo a su grado histopatológico, encontrándose al Astrocitoma Anaplásico (AA) a los 51 años, a diferencia del GBM que se encuentra a los 64 años, con predominio en el sexo masculino en una relación 1.2:1 con respecto al sexo femenino. No obstante, pueden aparecer a cualquier edad (18, 19).

La clasificación de la OMS es solamente un criterio entre varios otros que de manera global pretenden predecir la evolución de los tumores del SNC y su respuesta al tratamiento. Entre los criterios clínicos que aplican a los Astrocitomas, y que están clásicamente asociados al pronóstico de los mismos, encontramos la edad del paciente, el índice de rendimiento o de valoración funcional de Karnofsky (KPS), el grado de malignidad de la OMS, y la extensión de resección alcanzado en la cirugía corroborado por imagen de resonancia magnética (IRM) con contraste en el postoperatorio inmediato. En resumen, a los pacientes con menor edad, con grados bajos de la OMS, con puntajes mejores de KPS, y con resecciones totales, la supervivencia es mayor. Aunque la combinación de estos factores clínicos nos brindan un pronóstico más certero, el estudio

de marcadores biomoleculares ha tomado cada vez mayor importancia al momento de complementar y precisar los diagnósticos, así como en la predicción de sobrevida (18).

Los Marcadores Moleculares en Astrocitomas

La clasificación de malignidad de la OMS ha adquirido mayor precisión con el uso de marcadores moleculares, convirtiéndose estos últimos en parte integral en la toma de decisiones en el tratamiento de los gliomas, ya que no solamente disminuye la variabilidad interobservador, sino que distingue nuevos tipos y variantes de tumores. Actualmente, se han estudiado varios marcadores biomoleculares con valor pronóstico identificados en GBM, entre ellos se encuentran el estado del gen promotor para *MGMT* (O^6 -methylguanine-DNA methyltransferase), la mutación de *IDH1/2* (Isocitrate Dehydrogenase enzyme 1/2), la sobreexpresión y amplificación de receptor del factor de crecimiento epidermoide (epidermal growth factor receptor, *EGFR*), el fenotipo metilador de islas CpG en gliomas (glioma-CpG island methylator phenotype, G-CIMP), la mutación de la proteína tumoral (tumor protein, *TP53*), y la pérdida genética de cromosomas, entre otros. De estos marcadores moleculares, los tres utilizados de manera rutinaria en la práctica por su carga diagnóstica y pronóstica, son la mutación de *IDH1/2*, la metilación del promotor *MGMT* y la pérdida de heterocigocidad (Loss of Heterozygosity, *LOH*) de 1p19q, considerados factores de buen pronóstico (16, 20).

El Estado *MGMT*. El status de metilación del promotor de *MGMT* es el predictor más certero en relación a la respuesta a la *TMZ* por parte del GBM. La *TMZ* es un agente alquilante, cuyo mecanismo de acción consiste en depositar grupos alquilantes en las bases de guanina del ADN tumoral. Esto provoca un daño que, de no ser revertido o reparado, llevará a la apoptosis de la célula. La proteína *MGMT* es capaz de reparar este daño y evitar la muerte de la célula tumoral, es decir, le confiere a las células tumorales protección contra la *TMZ*. La metilación silencia esta función reparadora de la *MGMT*, por lo que el estado de metilado hace que la respuesta a un agente alquilante sea mayor, y así de manera inversa, cuando el status de no metilado esta presente, el resultado de la quimioterapia es menor. El uso de la *TMZ* incrementa la sobrevida a dos años, sobretodo en los pacientes con status de metilado, con tasas de 49 y 24% para la terapia combinada (*TMZ* + *RT*) y para la radioterapia sola, en comparación al 15 y 2%, respectivamente, para los paciente no metilados (21, 22). En un estudio clínico randomizado (randomized clinical trial, *RCT*), el estudio German Neuro-Oncology Working Group (*NOA*) en su fase III, encontró que la metilación del promotor de *MGMT* es un biomarcador predictivo muy fuerte de sensibilidad a la *TMZ* en pacientes mayores, al comparar la respuesta al tratamiento con radioterapia sola versus quimioterapia sola con *TMZ* en pacientes mayores con diagnóstico reciente de GBM (23). Al respecto del estado de metilación de *MGMT*, en un estudio reciente dentro de la red del proyecto The

Cancer Genome Atlas (TCGA), se encontró que un subgrupo de las muestras de GBM presentaban en mayor cantidad focos (islas CpG) de hipermetilación, teniendo diferencias tanto moleculares como clínicas. Las islas CpG metiladas al unirse a ciertas proteínas producen pérdida de transcripción y silenciamiento de MGMT. A este estado de hipermetilación se le denominó Fenotipo metilador de islas CpG en gliomas (G-CIMP), relacionándose este perfil al subgrupo proneural, con un mejor pronóstico, a encontrarse en pacientes más jóvenes, en gliomas de bajo grado, y asociados a las mutaciones somáticas de IDH1 (24, 25).

IDH 1 / 2. Las mutaciones en los genes de la IDH han sido descubiertas en años recientes, esto en el año 2008 por parte del proyecto TCGA (26). Existen al menos 3 isoformas conocidas de IDH (IDH 1, IDH 2, IDH 3), de las cuales solamente las dos primeras se han encontrado en relación con los gliomas. El IDH es una enzima catalizadora que se encuentra en el citoplasma (IDH 1) y en las mitocondrias (IDH 2). Su función de manera normal es promover la conversión de isocitrato en alfa-cetoglutarato (alpha-ketoglutarate, alpha-KG) y en dinucleótido de adenin nicotinamida (nicotinamide adenine dinucleotide, NADPH). Sin embargo, esta conversión no se realiza al encontrarse la forma mutada de la enzima, y en su lugar se produce 2-hidroxioglutarato (2-hydroxyglutarate, 2-HG) (27). Actualmente se encuentra en estudio las vías oncogénicas de 2-HG ya que se ha comprobado encontrarse acumulado en cantidades elevadas en gliomas y otros tipos de cánceres, buscando posibles blancos terapéuticos (28). Los gliomas pueden clasificarse de acuerdo a si presentan la forma salvaje del IDH ó su forma mutante. La forma mutante del IDH se encuentra en la mayoría de los gliomas grado II y III de la OMS, así como de los GBM secundarios. La presencia de esta forma mutante conlleva un fenotipo de glioma con mejor pronóstico que la forma no mutante, siendo un marcador de pronóstico favorable, incluso entre gliomas del mismo grado histológico (16, 29).

Codeleción de cromosomas 1p/19q. La pérdida combinada de material genético en el brazo corto del cromosoma 1 y del brazo largo del 19, se ha asociado en estudios clínicos randomizados a buen pronóstico en algunos tipos de gliomas anaplásicos (sobre todo en tumores oligodendrogiales), independientemente de tratarse de tumores similares histológicamente (30, 31). Está demostrado que esta codeleción es un marcador pronóstico de respuesta a la quimioterapia en los oligodendrogliomas anaplásicos, además de que ha sido recomendado por las guías de tratamiento de la USA National Comprehensive Cancer Network (NCCN) como el único marcador molecular para la estratificación terapéutica en oligodendrogliomas anaplásicos y en gliomas mixtos (32). No obstante, este status de codeleción 1p/19q no juega ningún papel como marcador pronóstico en GBM (33). Se realizó un estudio retrospectivo en gliomas anaplásicos que incluyeron un cohorte del estudio NOA-04, en el que se propuso una clasificación

molecular basada en el status IDH1, G-CIMP y la codelección 1p/19q, demostrándose que su traducción clínica en cuanto a supervivencia tuvo mayor precisión que solo la clasificación histológica (23, 34, 35). **Figura 1.**

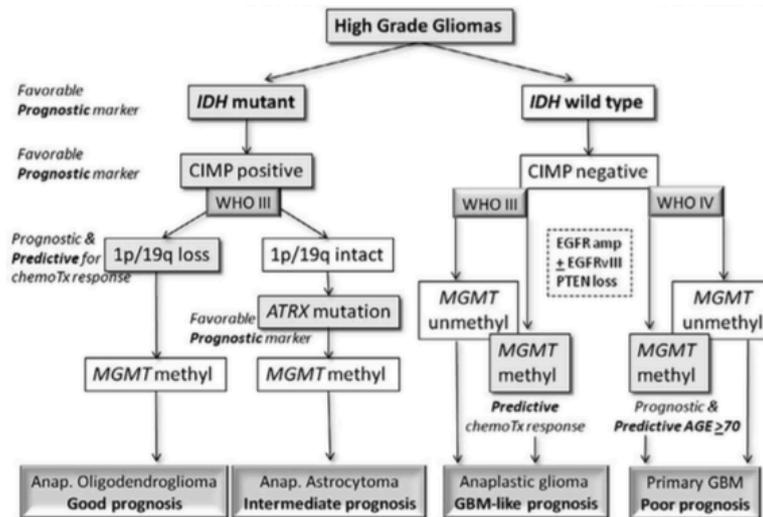


Figura 1. Clasificación molecular, pronóstica y con implicación predictiva de los biomarcadores en gliomas de alto grado de adultos. Tomada de Siegal T (29).

El Sistema Renina Angiotensina (SRA)

En la actualidad se conocen dos panoramas del SRA, uno clásico y uno nuevo recién descubierto hace algunos años. El modelo clásico se le conoce por su acción a nivel sistémico en la homeostasis circulatoria del organismo, al haber como estímulo la disminución de la presión arterial o del sodio plasmático. En este modelo se encuentra el Angiotensinógeno que es sintetizado y liberado a la circulación por el hígado, dando posteriormente origen a la Angiotensina I (AngI) gracias a la Renina del aparato yuxttaglomerular renal. Mas adelante, la AngI es hidrolizada por la Enzima Convertidora de Angiotensina (ECA) pulmonar, con lo que se forma al octapéptido activo Angiotensina II (AngII), que ejerce su acción principalmente por medio del Receptor de Angiotensina tipo I (angiotensin II receptor type 1, AT1R) con el objetivo de incrementar la aldosterona plasmática, producir vasoconstricción, retener agua y sodio, e incrementando la sed y el apetito por sal, todos estos mecanismos que pretenden mantener la homeostasis cardiovascular. **Figura 2.**

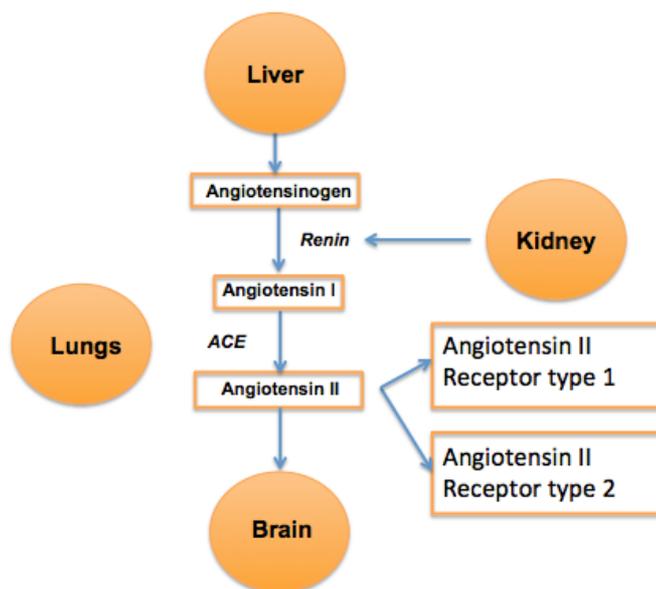


Figura 2. Modelo Clásico del Sistema Renina Angiotensina (SRA).

El nuevo modelo del SRA tiene como característica general no ejercer su acción de manera sistémica como el clásico, y en cambio hacerlo a través de mecanismos de regulación locales (parácrinos). De igual manera, se está estudiando el papel que las vías de este modelo ejercen en el sistema nervioso central, ya que la AngII al tener dificultades para cruzar la barrera hematoencefálica, se ha deducido la existencia de todo un SRA a nivel cerebral de manera separada al sistema periférico conocido, con los precursores y enzimas necesarias para dar origen a formas activas de la angiotensina. Además con el descubrimiento de este SRA a nivel cerebral, se tiene evidencia de que guarda relación con variadas enfermedades del SNC, entre ellas la demencia y la Enfermedad de Parkinson (36, 37). En este contexto, se sabe que en este nuevo panorama del SRA además de la AngII existen múltiples péptidos que son activos, algunos de ellos derivados del mismo AngII. Sus acciones se dan a través de más de un receptor, principalmente por el AT1R y el Receptor de Angiotensina tipo II (angiotensin II receptor type II, AT2R), entre al menos otros cuatro receptores (7, 38, 39). **Figura 3.**

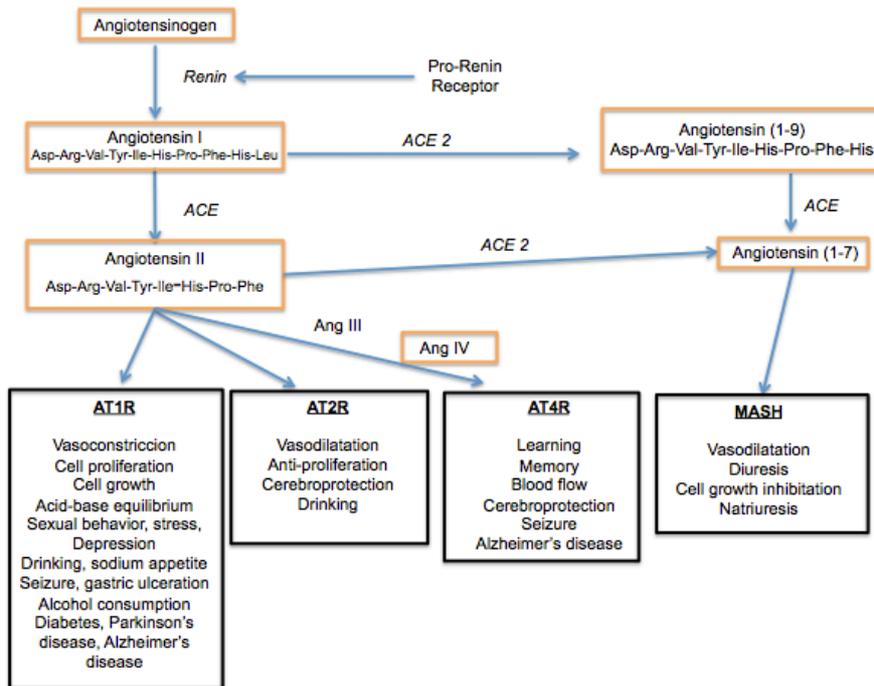


Figura 3. Sistema Renina Angiotensina en el Cerebro. Se observan péptidos y enzimas que intervienen en la conversión del Angiotensinógeno en Angiotensina I. Se muestran de igual manera las formas biológicamente activas y receptores. Modificada de Wright JW (39).

El AT1R favorece la angiogénesis, la proliferación celular y la inflamación, así como mecanismos anti-apoptosis; sin embargo, el AT2R parece inducir respuestas antagónicas, aunque sea de manera parcial, ya que puede ser tanto pro-angiogénico como pro-inflamatorio. Este tipo de respuestas diversas demuestra la complejidad de las vías de este nuevo panorama del SRA, vías que parecen desempeñar un papel en la angiogénesis y en la proliferación celular, ya sea de manera directa o indirecta. Esto hace suponer que el equilibrio entre estos mecanismos del SRA pueden contribuir en el crecimiento tumoral y en la angiogénesis (8, 40-43). **Figura 4.**

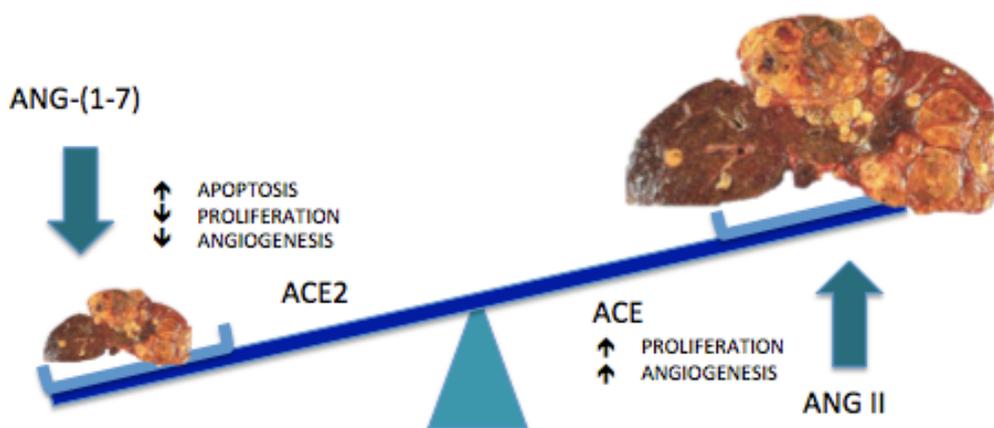


Figura 4. Balance entre los efectos del SRA en la tumorigénesis. El SRA tiene funciones tanto promotoras como inhibitorias de la proliferación celular y de la angiogénesis. Modificada de Ager EI (8).

Sabiendo que existe expresión del SRA a nivel local en múltiples tejidos del organismo, no es raro pensar que se encuentren estos expresados en los tejidos tumorales. Es así como analizando al SRA bajo el cristal del paradigma de Hanahan y Weinberg, en el que propusieron los mecanismos o “hallmarks” de la carcinogénesis, ha quedado claro a través de estudios *in vitro* e *in vivo* que se encuentra relacionado en la señalización proliferativa, en la evasión de supresores del crecimiento, en la resistencia a la muerte celular, en la inducción de la angiogénesis, en la reprogramación del metabolismo energético, en la inflamación, en la migración celular, en la invasión y en la metástasis (6, 7). Se han identificado diversos componentes de este SRA sobreexpresados en algunos cánceres (cerebral, pancreático, mamario, entre otros), principalmente el AT1R. Sin embargo, este hallazgo ha sido inconsistente entre los diversos cánceres en cuanto a su grado de malignidad y también de manera individual, dejando en evidencia nuestro desconocimiento de las diversas vías por las que interviene el SRA en la proliferación tumoral. Medicamentos utilizados como antihipertensivos, en particular los inhibidores de la ECA y los antagonistas de AT1R se han estudiado como posibles terapias blanco que pudieran servir en contra de la progresión tumoral. Según algunos análisis retrospectivos, este tipo de terapia antihipertensiva confiere cierto factor de protección o profilaxis en la oncogénesis de algunos tipos tumorales en algunos individuos, resultado que ha sido inconsistente, e incluso contradictorio, en otros estudios (44-47).

La predisposición de algunas familias o de algunos grupos étnicos a ciertos tipos de cánceres hace deducir la posible influencia genética en la carcinogénesis de estos tumores. Así fue como se encontró relación entre el gen del *AGT* y ciertos cánceres como el gástrico asociado a *H. Pylori*, de mama en la postmenopausia, ó el cáncer colorrectal (13, 48, 49). Otro ejemplo fue el Cáncer de células renales, en el que su asociación con hipertensión arterial hizo apuntar los estudios moleculares hacia 142 polimorfismos de 8 genes asociados al control de la presión arterial, encontrando que el *AGT* y algunos de sus haplotipos podrían representar un riesgo de susceptibilidad a este tipo de tumor en individuos predispuestos (50).

El gen *AGT* y sus polimorfismos ya se han estudiado previamente desde hace casi tres décadas en el contexto de la hipertensión arterial, así como la correlación entre la concentración plasmática de *AGT* y la presión arterial. El gen *AGT* se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 1 (1q42.3), con 5 exones y cuatro intrones, abarcando 13 kilobases (kb). Este gen codifica a la proteína Preangiotensinogeno ó precursor de Angiotensinógeno, la cual por medio de la Renina dará origen a la angiotensina I, comenzando la cascada que dará origen a mas de un metabolito activo, siendo la angiotensina II el más importante de ellos (51). Se ha asociado la presencia

de ciertos haplotipos del *AGT* con los niveles plasmáticos de *AGT*, resultados variados de acuerdo al tipo de población estudiada (12, 52). El *AGT* es una proteína que consta de 452 aminoácidos, y sus niveles en sangre se encuentran regulados por factores hormonales, e influidos como ya se ha mencionado, por variaciones en el genotipo del *AGT*. Es sintetizado en hígado principalmente, pero también en células gliales, riñón, paredes de los grandes vasos y adipocitos, sitios con gran actividad angiogénica. El *AGT* se le ha relacionado estructuralmente a la familia de las Serpinas, y al igual que a ciertos miembros de esta familia, se le ha comprobado efecto antiangiogénico. El *AGT* y dos de sus derivados, la Des(Ang I)*AGT* y el RCL-cleaved *AGT*, con concentraciones altas han probado ser antiangiogénicos en modelos *in-vitro* (53). **Figura 5.** Y recientemente, en modelos *in vivo* (en ratones transgénicos con hepatocarcinoma) se demostró que este efecto antiangiogénico del *AGT* retrasa la progresión tumoral (54). Esto lleva a deducir la importancia del equilibrio entre factores proangiogénicos y antiangiogénicos en la carcinogénesis, misma que estudiamos en relación a diferentes polimorfismos de *AGT* en Astrocitomas en un trabajo previo de nuestro equipo. La identificación de la relación del riesgo y pronóstico con uno de estos marcadores moleculares de *AGT* será llevada a cabo en base a esta evidencia existente.

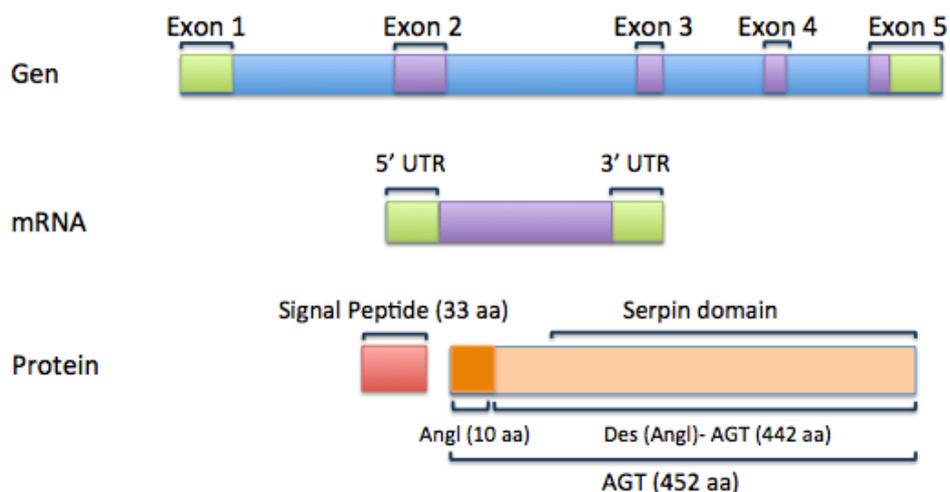


Figura 5. Gen *AGT*, mRNA, y Proteína (de arriba abajo). En la representación esquemática de la proteína *AGT*, se muestran algunos de sus derivados. Modificada de Celerier J (53).

JUSTIFICACIÓN

La supervivencia en algunos pacientes con Astrocitomas ha aumentado discretamente con tratamientos óptimos en las últimas décadas, siendo aún así menor a dos años en promedio (55). Esta heterogeneidad en la supervivencia de los pacientes se ha intentado vincular a ciertos factores de riesgo y de pronóstico, tanto clínicos como moleculares, siendo éstos últimos identificados hasta el momento solamente en tejido tumoral. He ahí la necesidad del neurocirujano y del equipo médico tratante de identificar algún factor molecular que este estrechamente relacionado con el riesgo y el pronóstico, sea útil en la toma de decisiones terapéuticas y del seguimiento, y que sea posible su identificación en sangre. Hasta el momento no existe información suficiente sobre la identificación de la variable nucleotídica del gen *AGT* rs5050 en sangre ni su relación con riesgo ó pronóstico.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los Astrocitomas son los tumores cerebrales primarios más frecuentes en la población adulta, cuya historia natural conlleva una alta morbimortalidad que se traduce en desgaste emocional en la familia y económico en la sociedad. El análisis biomolecular de marcadores tumorales en sangre promete abrirnos paso al mejor entendimiento de estos tumores, en particular a lo referente al riesgo y la supervivencia de los pacientes, para poseer conocimiento que nos permita predecir el comportamiento de los mismos y poder tomar decisiones más acertadas en su tratamiento.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el factor de riesgo para astrocitoma en pacientes que presentan la variante rs5050 del gen *AGT* en sangre?

¿Cuál es el pronóstico en pacientes con astrocitoma que presentan la variante rs5050 del gen *AGT* en sangre?

HIPÓTESIS

La presencia de la variante rs5050 en el gen *AGT* en sangre es factor de riesgo para astrocitoma.

La presencia de la variante rs5050 en el gen *AGT* en sangre en pacientes con astrocitoma se asocia a menor sobrevida.

OBJETIVOS

A) Generales

- Determinar la relación entre la variante rs5050 de *AGT* en sangre con el riesgo para astrocitoma.
- Determinar la relación entre la variante rs5050 de *AGT* en sangre con el pronóstico en pacientes con astrocitomas.

B) Específicos

- Identificar la variante rs5050 del gen *AGT* en sangre en pacientes con astrocitoma.
- Analizar variables genotípicas de la variante rs5050 del gen *AGT* en pacientes con astrocitoma.
- Determinar la frecuencia génica y genotípica ó alélica del gen *AGT* en pacientes con astrocitoma.
- Analizar variables clínicas como edad, grado tumoral, sexo, con la presencia de las variables genotípicas de *AGT* rs5050.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del Proyecto: Estudio analítico prospectivo.

Universo del estudio: Pacientes con diagnóstico de astrocitoma primario tratados con cirugía por fines terapéuticos y/o diagnósticos, mayores de 18 años y ambos sexos, en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de 2012-2015.

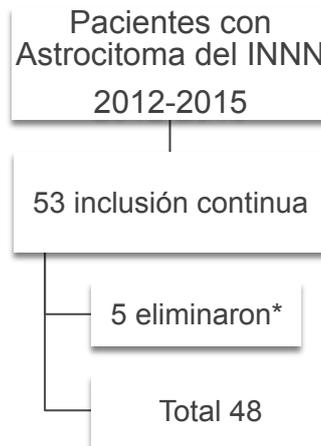
Lugar: Instituto Nacional de Cancerología (Laboratorio de Diagnóstico Molecular y Laboratorio de Carcinogénesis) é Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (División de Neurocirugía).

Criterios de Inclusión: Pacientes con diagnóstico de astrocitoma por histopatología, vírgenes a tratamiento previo a su inclusión al presente estudio, mayores de 18 años y ambos sexos, con muestra de sangre suficiente para secuenciación masiva de ADN. Se excluyeron tumores con otro componente glial o de otra extirpe.

Variables: Toda la información clínica de los sujetos en estudio fue obtenida de expedientes clínicos. Los resultados principales fueron el riesgo y la sobrevida. El riesgo fue definido como el aumento en la probabilidad de padecer la enfermedad atribuido a la presencia de la variante estudiada. La sobrevida fue definida como el tiempo entre el diagnóstico y la muerte/última cita del paciente. El grado tumoral fue recabado del reporte de patología y se basa en lo establecido por la clasificación de la OMS del 2007. El grado de resección fue clasificado de acuerdo a los estudios de imagen postoperatoria (tomografía y resonancia). Todos los antecedentes personales patológicos fueron tomados del expediente clínico. Se estableció un punto de corte en 70 para el KPS. El síntoma de presentación inicial se definió como aquel que hizo que el paciente buscara atención médica. La determinación del gen *AGT* y de sus variables genotípicas en sangre fueron por secuenciación masiva por medio del ION torrent, con una profundidad mínima de 100x, de muestras tomadas de los sujetos en estudio. La información del grupo control fue obtenido de la base de datos de HapMap Project(http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Mappings?db=core;r=1:230849386-230850386;v=rs5050;vdb=variation;vf=1079).

Análisis Estadístico: Se realizó estadística descriptiva usando promedios, medias, porcentajes, máximos y mínimos. Análisis bivariado con tablas de contingencia, para obtener Chi cuadrada, Odds Ratio, e Intervalos de confianza al 95%. Se considero estadísticamente significativo $p < 0.05$, siendo esta última obtenida por test exacto de Fisher. Se utilizaron gráficas de Kaplan Meyer para sobrevida. La información fue analizada utilizando el *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) V 21.0, Excel, y GraphPad Prisma 7.

PROGRAMA GENERAL



*Pacientes eliminados por diagnóstico histopatológico diferente a astrocitoma.

ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio se considera de *riesgo mínimo* para el sujeto de estudio de acuerdo con la Ley General de Salud publicada en el Diario Oficial de la Federación en abril de 2010, así como a los lineamientos de la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial sobre Principios Éticos para las investigaciones en Seres Humanos. La información que fue obtenida en la revisión de los expedientes clínicos es anónima y no puede relacionarse con el nombre del paciente, se manejaron claves internas para manejar la información de los pacientes con lo que se garantiza la confidencialidad y el anonimato de cada paciente. El proyecto forma parte de un estudio más amplio, previamente sometido y aprobado por el Comité de Ética del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (# 6712).

ASPECTOS FINANCIEROS

El presente estudio se realizó como sublínea de un estudio previo de nuestro equipo de investigación, con apoyo de Conacyt SALUD-2013-01-202720, del Programa Universitario de Investigación en Salud (UNAM), y la Beca para Apoyo a la Investigación Carlos Slim.

RESULTADOS

Características demográficas

Se incluyó y fueron secuenciadas las muestras de sangre de un total de 48 pacientes. La edad media fue de 49.1 +/- 14.5 años. 50% (24 casos) fueron mujeres y 50% (24 casos) hombres. En cuanto a antecedentes de importancia, 18.7% eran hipertensos, 16.6% con diagnóstico de DM 2, 31.3% historia de tabaquismo, 10.4% alcoholismo y solo 8.3% alguna neoplasia previa.

Características clínicas

El síntoma principal fue cefalea en 14 casos (29.2%). La localización más común fue en el lóbulo frontal y temporal izquierdos, con 16.7% (8 casos) para cada uno. El 68.7% (33) de los casos correspondieron a tumores de alto grado. El resto de las características se muestran en la **Tabla 1**.

Tratamiento.

El número promedio de cirugías fue de 1.2 por paciente, con un mínimo de 1 y un máximo de 3 cirugías. Se tomo en cuenta solo los resultados de la primera cirugía. La resección total se logró en sólo 43.8% de los casos, y parcial en 56.3%. De nuestra muestra de pacientes el 18.7% presentaron alguna complicación relacionada con la cirugía, siendo las más comunes edema y hemorragia.

El Karnofsky postoperatorio fue mayor a 70 en 79.2% (38 pacientes) y menor a 70 en 20.8% (10 casos).

El 50% (24) de los pacientes recibieron tratamiento complementario con radioterapia estándar (60 Gy en 28 fracciones) y 6.2% (3) recibieron radioneurocirugía, así como el 50% (24) recibieron quimioterapia. De estos 24 pacientes, 11 pudieron costear el medicamento estándar (temozolamida) y el resto recibieron otros esquemas con carboplatino, vincristina, cloroquina, cisplatino y carmustina.

Tabla 1. Características Clínicas

Variable	Valor
Diagnóstico	%
Grado I	2
Grado II	13
Grado III	5
Grado IV	28
Edad de presentación (años)	
Grado I	31
Grado II	41
Grado III	46
Grado IV	54
Localización	
Frontal	31
Temporal	29
Parietal	19
Occipital	4
Otros	17
Síntoma inicial	
Cefalea	29
Déficit motor	19
CCTCG*	21
Funciones mentales**	17
Crisis parciales	4
Otros	10

*Crisis Convulsivas Tónico-Clónicas Generalizadas

** Lenguaje, Juicio, Cálculo, Abstracción, etc.

Variables de AGT rs5050

Las variables del AGT rs5050 de acuerdo a las frecuencias globales en controles (HapMap) se encuentran distribuidas de esta manera: genotipo TT en 72%, TG en 26% y GG en 2%; alelo T en 85% y alelo G en 15%. De ahí sabemos que el alelo T es la variable Silvestre en la población general. Posteriormente se identificaron en nuestra muestra la siguiente proporción: En los 48 pacientes con astrocitoma, el genotipo TT se encontro en 29 pacientes (60.4%), el TG en 17 casos (35.4%), y el GG en 2 pacientes (4.2%); mientras que en el grupo control se identifico el genotipo TT en 701 individuos (72%), el TG en 252 (25.8%), y el GG en 21 (2.2%). **Tabla 2.**

Tabla 2. Frecuencias Genotípicas de Casos y Controles

	GG	TG	TT	TOTAL (%)
CASOS	2 (4.2)	17 (35.4)	29 (60.4)	48 (100)
CONTROL	21 (2.2)	252 (25.8)	701 (72)	974 (100)
	23	269	730	1022

Se calculo de igual manera la proporción de cada alelo (T y G) en el locus estudiado.

Tabla 3.

Tabla 3. Frecuencias Génicas de Casos y Controles

	T	G	TOTAL
CASOS	0.78	0.22	1
CONTROL	0.85	0.15	1

Considerando al alelo G como alelo de riesgo, y al alelo T como alelo de no-riesgo, se agruparon los casos y controles en tres tipos de modelo: Dominante, Recesivo, y Co-dominante. **Tabla 4.**

Tabla 4. Agrupación de Casos y Controles en modelos con G como alelo de riesgo

Dom		Rec		CoDom	
GG + GT	TT	GG	GT+TT	GT	GG+TT
19	29	2	46	17	31
273	701	21	953	252	722
292	730	23	999	269	753

Una vez agrupados, se obtuvieron Chi cuadrada, Odds Ratio (OR), Intervalos de Confianza de 95%, considerando P significativa menor a 0.05, al compararse con frecuencias globales (HapMap). **Tabla 5.**

Tabla 5. Asociación de variante rs5050 con riesgo para astrocitoma

	Dominante		Recesivo		Codominante	
X²	2.993		0.840		2.149	
OR	1.682		1.973		1.571	
IC 95%	0.918	3.007	0.448	7.879	0.871	2.842
P	1.008		0.294		0.177	

Riesgo de Mortalidad y Sobrevida

El tiempo de seguimiento fue de 4 años. Al momento de concluir el estudio 21.1% (13) de los pacientes se encontraban vivos con enfermedad, 2.1% (1) vivo sin enfermedad, 68.8% (33) muertos por cáncer, y 2.1% (1) se reportó como perdido. La sobrevida general fue de 11.2 meses, con un rango de 1 a 28 meses. De los pacientes muertos por cancer, el 72.7% (24) fallecieron antes del primer año, el 21.2% (7) lo hicieron entre los 12 y 24 meses, y solo el 6.1% (2) sobrevivieron mas allá de los 24 meses.

Se realizan tablas de contingencia en relación al estado actual del paciente (vivo o muerto) y a la exposición al alelo de riesgo G (de acuerdo al modelo dominante, recesivo y codominante), con las cuales se calcula el OR con un IC 95%, y se determina el valor de P.

Tabla 6. Tabla de contingencia, relación entre Estado actual y polimorfismo de AGT.

ESTADO ACTUAL	POLIMORFISMO			TOTAL (%)
	TT	TG	GG	
VIVO	9 (18.7)	5 (10.4)	0 (0)	14 (29.1)
FALLECIDO	19 (39.6)	13 (27.1)	2 (4.2)	34 (70.9)
TOTAL	28 (58.3)	18 (37.5)	2 (4.2)	48 (100)

Tabla 7. Tabla de contingencia, relación entre Estado actual y Alelo G como dominante.

DOMINANTE	FALLECIDOS	VIVOS
GG+TG	15	5
TT	19	9

OR 1.42, IC 95% DE 0.4 A 5.1, P 0.750

Tabla 8. Tabla de contingencia, relación entre Estado actual y Alelo G como recesivo.

RECESIVO	FALLECIDOS	VIVOS
GG	2	0
TT+TG	32	14

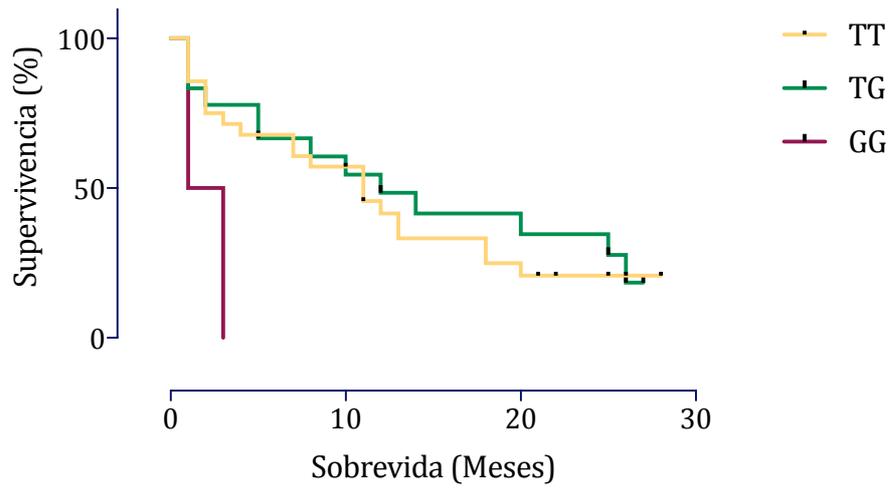
OR 1.36, IC 95% DE 0.1 A 14.2, P >0.999

Tabla 9. Tabla de contingencia, relación entre Estado actual y Alelo G como Codominante.

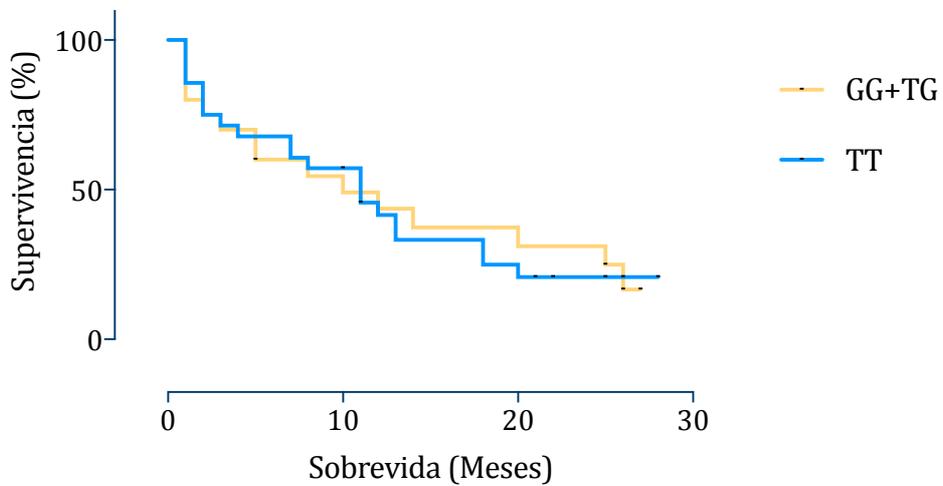
CODOMINANTE	FALLECIDOS	VIVOS
TG	13	5
GG+TT	21	9

OR 1.14, IC 95% DE 0.3 A 4.0, P >0.999

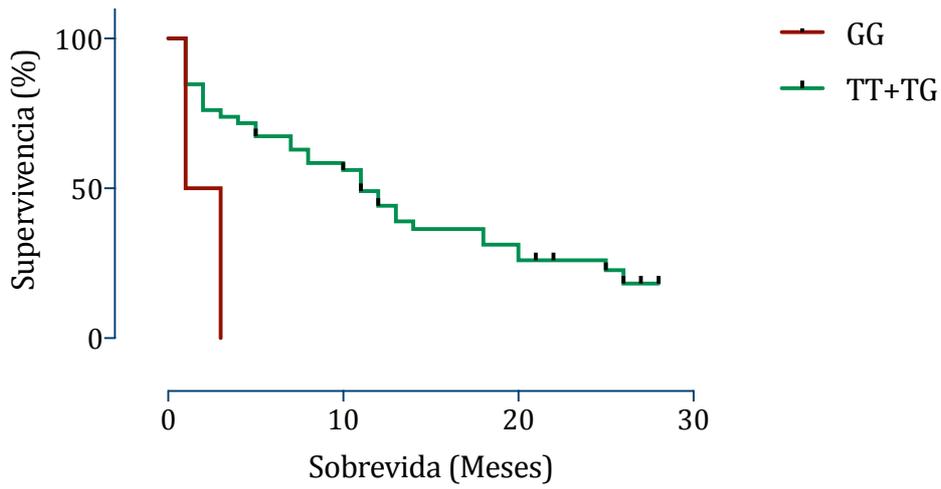
Se obtienen Curvas de Supervivencia de Kaplan-Meyer, en donde se compara la sobrevivencia de nuestra población en relación al Genotipo de rs5050, así como con los modelos de dominancia que presentan. De igual manera se calculan para algunas variables clínicas, como Grado Histológico, KPS, Grado de Resección, entre otros.



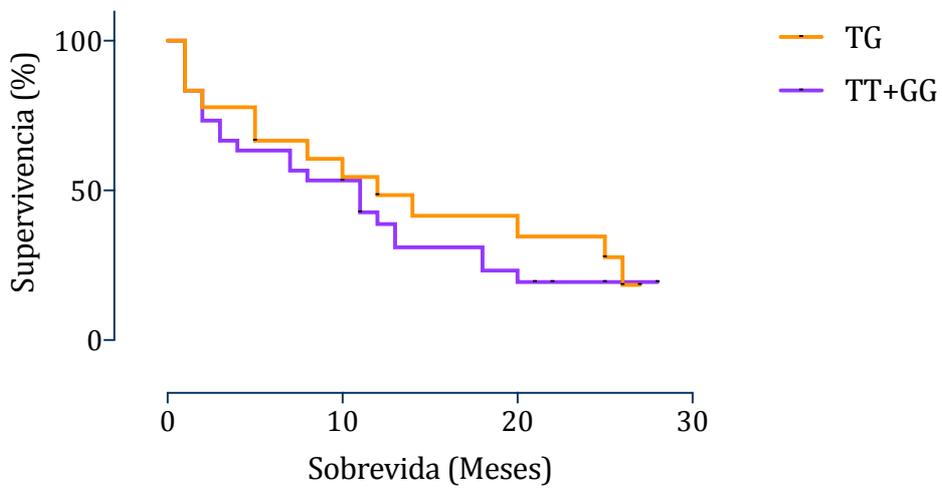
Gráfica 1. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer de polimorfismos de *AGT* rs5050 (p 0.057).



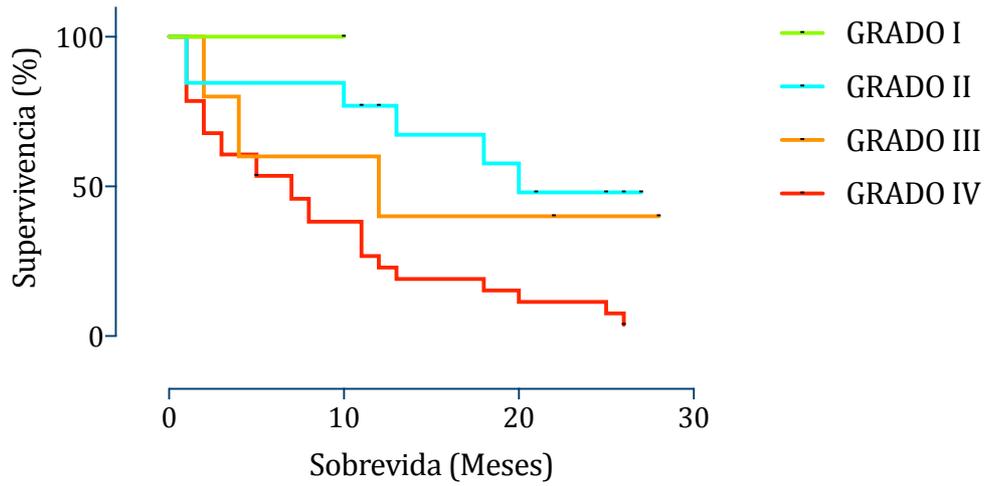
Gráfica 2. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer de *AGT* rs5050 como Dominante (p 0.908).



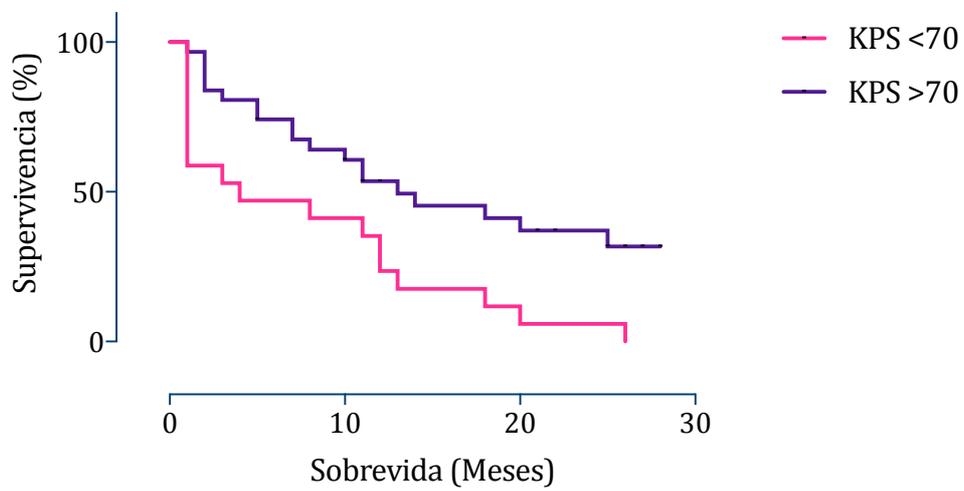
Gráfica 3. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer de *AGT* rs5050 como Recesivo (p 0.018).



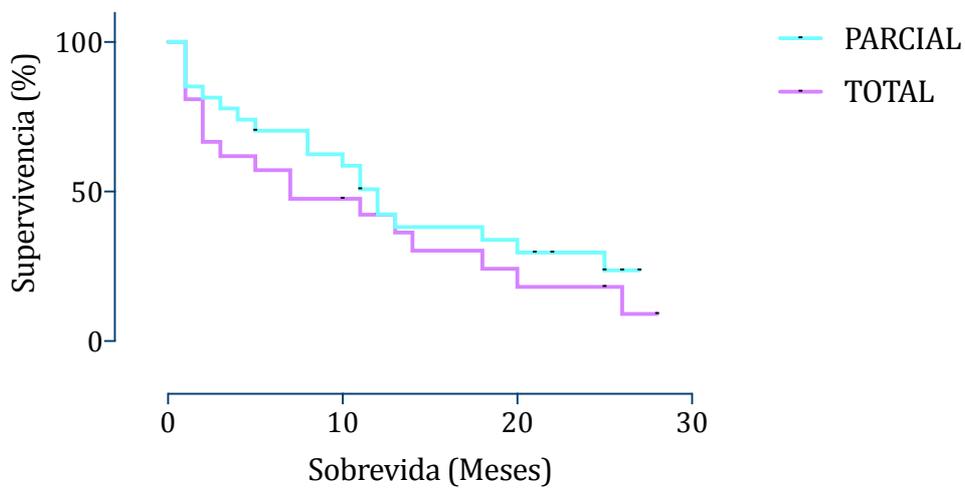
Gráfica 4. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer de *AGT* rs5050 como Codominante (p 0.515).



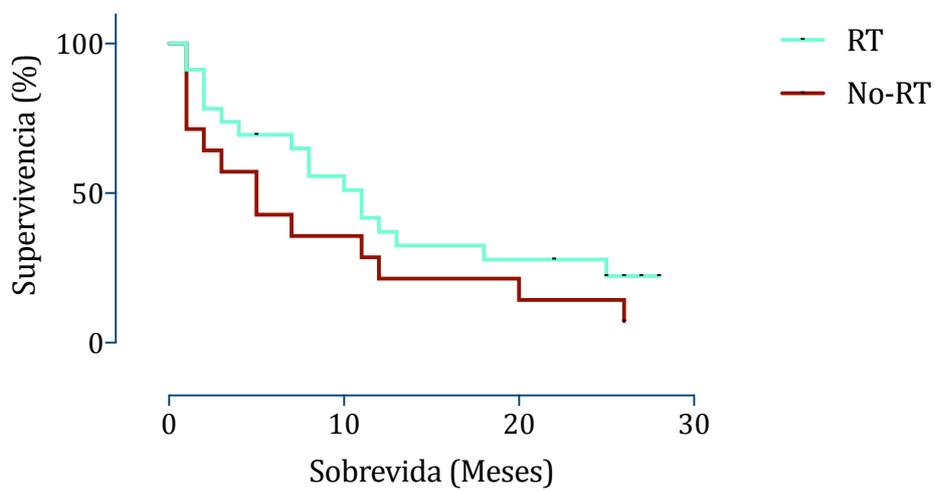
Gráfica 5. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Grado de la OMS
(p 0.011).



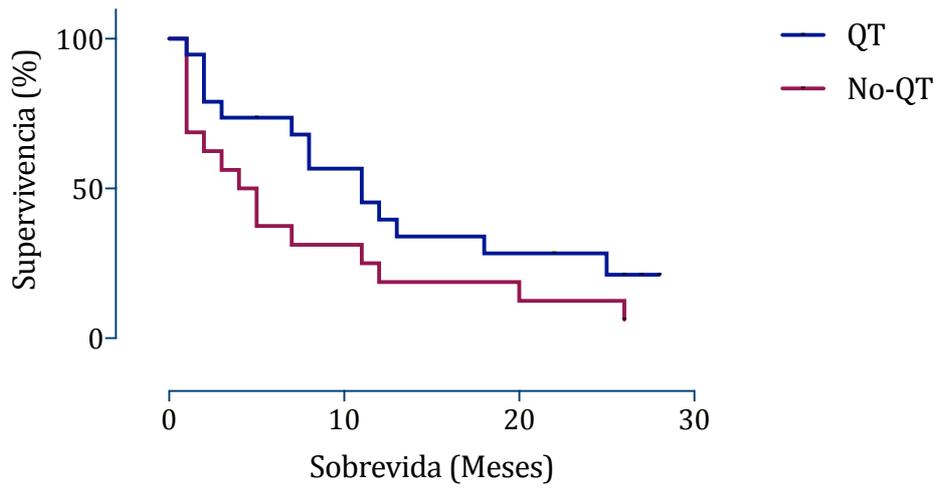
Gráfica 6. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por KPS
(p 0.004).



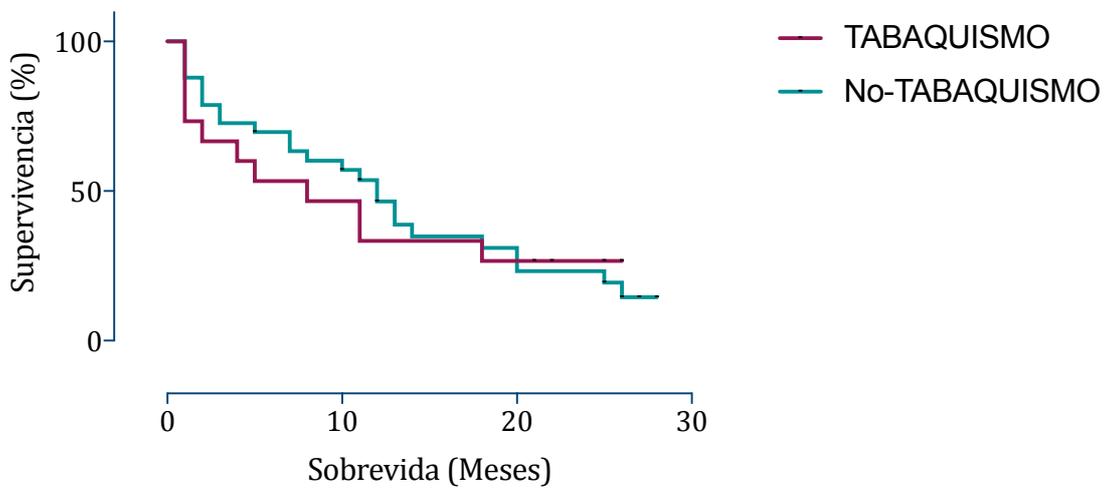
Gráfica 7. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Grado de Resección
(p 0.348).



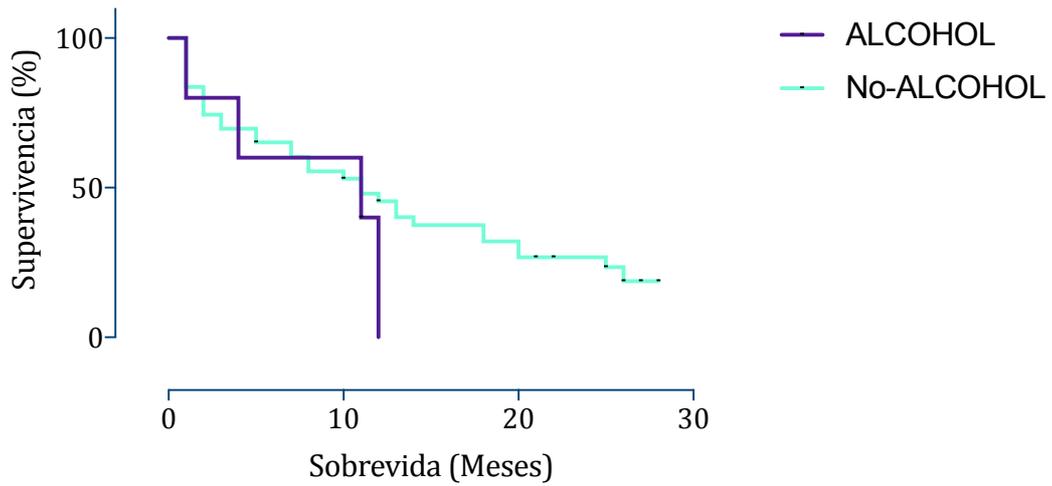
Gráfica 8. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Radioterapia
(p 0.186).



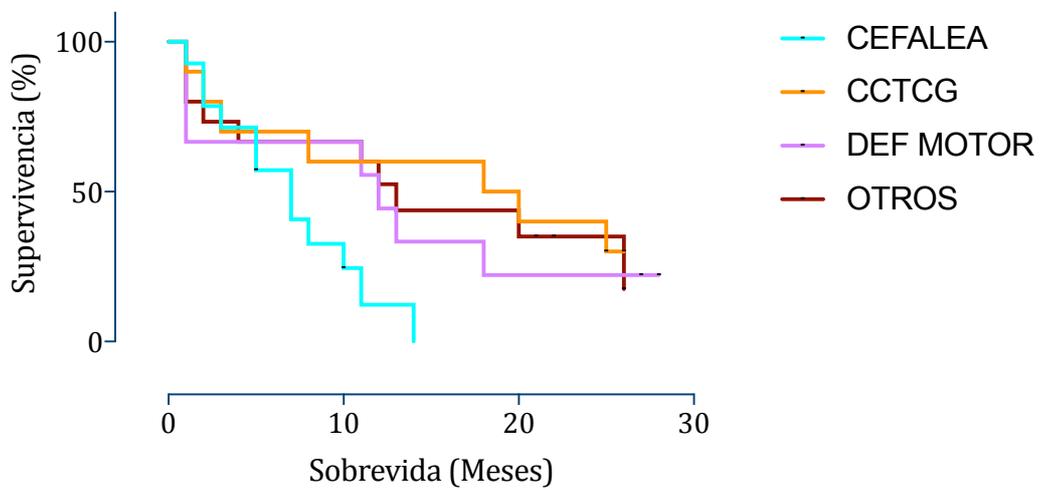
Gráfica 9. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Quimioterapia
(p 0.090).



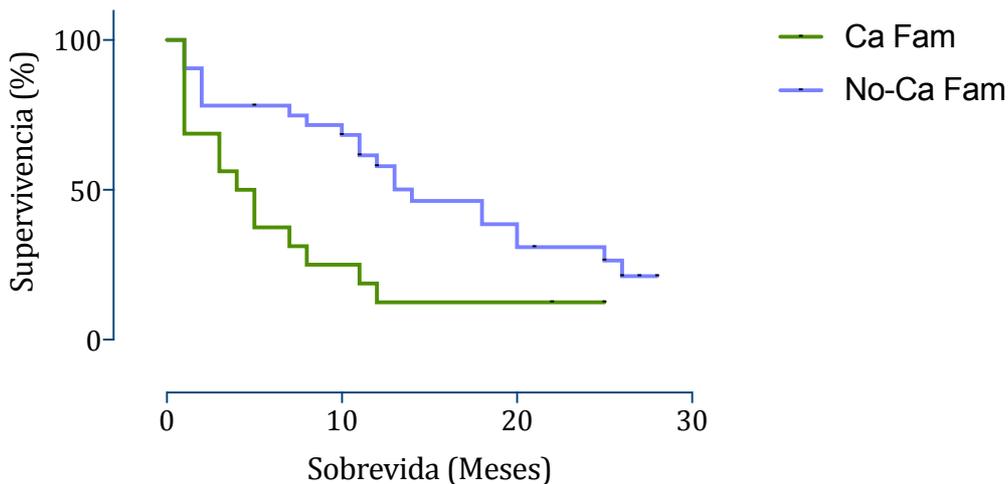
Gráfica 10. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Tabaquismo
(p 0.847).



Gráfica 11. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Consumo de Alcohol
(p 0.410).



Gráfica 12. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Síntoma Inicial
(p 0.083).



Gráfica 13. Curva de Supervivencia de Kaplan Meyer por Historia Familiar de Cáncer (p 0.009).

DISCUSIÓN

Los marcadores clínicos de edad, de grado histológico y de KPS se relacionaron de manera significativa con sobrevida. Se analizó el genotipo rs5050 del gen *AGT* en sangre, como biomarcador de riesgo y pronóstico en astrocitomas, encontrando en nuestro estudio evidencia que apoya nuestra hipótesis respecto al pronóstico, no así con el riesgo. Encontramos diferencias al comparar las frecuencias genotípicas y génicas del *AGT* rs5050, sin ser estadísticamente significativas para riesgo de astrocitoma. De igual manera, en el análisis del *AGT* rs5050 con el riesgo de mortalidad no se encontró relación significativa. Sin embargo, en el análisis de la sobrevida se encontró significancia en el patrón de herencia recesivo del *AGT* rs5050 tomando al alelo G como de riesgo, relacionándolo con un tiempo menor de sobrevida.

Los marcadores clínicos fueron analizados con análisis bivariado y con curvas de Kaplan Meyer para analizar la sobrevida. Se identificó relación con significancia estadística para la edad, el grado histológico y el KPS. **Gráfica 5 y 6.**

De manera particular e importante, la edad del diagnóstico se encontró de forma más temprana (49.1 años en promedio) en nuestra población, a los 46 años para Grados III, y 54 años para Grados IV, a diferencia de la edad promedio reportada a nivel mundial (51 y 64, respectivamente). Esto es un rasgo que probablemente sea propio de la población mexicana como ya ha sido reportado en estudios retrospectivos (56).

Y por último respecto a las características clínicas, se identificó tendencia hacia una mayor sobrevida en los pacientes sometidos a resección total, a radioterapia y a quimioterapia, sin alcanzar significancia estadística probablemente por el tamaño de la muestra. No se encontró relación entre el síntoma inicial, el consumo de alcohol y el tabaquismo con la sobrevida en nuestros casos. La historia familiar de cáncer se vinculó de manera negativa con la sobrevida, mostrando curvas diferentes significativamente (p 0.009), es decir, que los pacientes que no poseían una historia familiar de cáncer tuvieron una mayor sobrevida que aquellos que sí. **Gráfica 13.**

Se agruparon los casos y controles de acuerdo a las frecuencias genotípicas y génicas de *AGT* rs5050 para buscar su relación con el riesgo de astrocitoma. En la comparación de frecuencias genotípicas se apreció que el genotipo GG y TG se presentaba con mayor frecuencia en los casos que en los controles (4.2% vs 2.2%, 35.4% vs 25.8%, respectivamente). De la misma manera, en la comparación de frecuencias génicas se identificó en mayor cuantía al alelo G en los casos respecto a los controles (0.22 vs 0.15). Sin embargo, en el análisis estadístico no se demuestra ser significativo (p 0.274). De acuerdo a los modelos de herencia y teniendo al alelo G como el alelo de riesgo, se agrupan casos y controles en Dominante, Recesivo y Codominante, con la finalidad de determinar el genotipo de riesgo para astrocitoma. Se obtuvo chi cuadrada, OR, IC 95%, y valor de p . No se demostró relación del riesgo de astrocitoma con alguno de los modelos de herencia, obteniendo en los tres grupos un valor de p no significativo.

Es probable que esta evidencia estadística haya sido insuficiente por el tamaño de muestra, siendo aun posible que la diferencia en las frecuencias genotípicas y alélicas entre nuestros casos y controles sea explicada por el polimorfismo rs5050 como factor de riesgo. **Tabla 2, 3, 4 y 5.**

Se analizó el riesgo de mortalidad de los polimorfismos del *AGT* rs5050 en nuestros casos con tablas de contingencia, comparando los genotipos entre sí y de acuerdo a los modelos de herencia. Se identifica una diferencia en la proporción de los genotipos entre los pacientes vivos y los fallecidos; sin embargo, esta no alcanza una relación estadísticamente significativa. **Tablas 6, 7, 8 y 9.**

Respecto a la relación del *AGT* rs5050 y la sobrevida, se obtuvieron curvas de Kaplan Meyer. Se analizaron en primer instancia los polimorfismos de forma separada, y posteriormente en los modelos de herencia. La forma de las curvas por polimorfismos

separados no tuvo significancia, en otras palabras, no se evidencio relación de la sobrevida con alguno de los genotipos de manera individual. **Gráfica 1.**

Posteriormente, en las curvas de Kaplan Meyer para el modelo de herencia Recesivo (**Gráfica 3**) se identifico una diferencia significativa (p 0.018) entre ellas, no así en el patrón Dominante ni Codominante (**Gráfica 2 y 4**). Esto se traduce en que los pacientes que se encontraron con la presencia de G (la forma mutante) en ambos alelos, tuvieron una sobrevida menor que en el resto de pacientes (2 vs 11 meses).

El polimorfismo del *AGT* rs5050 ha sido estudiado previamente como SNP, y como parte de ciertos haplotipos. El SNP rs5050 se ha relacionado con el riesgo de cáncer gástrico en pacientes japoneses con infección por *H. Pylori* (13). En la población mexicana se ha vinculado los genotipos del SNP rs5050 con diferencias en los niveles de *AGT* en plasma; así como se encontró una relación entre el haplotipo H2 y el haplotipo H8 con disminución e incremento de los niveles del *AGT* plasmático, respectivamente (12). De igual manera, se ha comprobado que los niveles de *AGT* en plasma se relacionan a una disminución en la angiogénesis, efecto contrario al demostrado de algunos péptidos derivados del *AGT* y de otros factores de crecimiento vinculados al mismo, que han mostrado ser pro-angiogénicos (53, 57, 58). La sobreexpresión a nivel local de los componentes del SRA que ha sido demostrada en algunos tipos de cáncer nos indica que existe una asociación entre ésta sobreexpresión del SRA y la tumorigénesis (59, 60). Se han identificado los componentes del SRA con una distribución heterogénea en el tejido tumoral de los astrocitomas, con efectos dobles en la angiogénesis, la proliferación celular y la apoptosis (61). Por toda esta evidencia, sugerimos que la relación del rs5050 con la sobrevida encontrada en el presente estudio, se encuentra asociado a este complejo sistema de regulación tumoral del que el SRA forma parte.

CONCLUSIONES

- Primer estudio que analiza la relación entre el polimorfismo *AGT* rs5050 en sangre y el riesgo de astrocitoma y pronóstico.
- En el presente análisis, hay evidencia insuficiente que relacione *AGT* rs5050 con el riesgo y mortalidad en astrocitoma.
- **Se identifica evidencia de una relación entre el patrón de herencia recesivo del *AGT* rs5050 y la sobrevida.**
- Se corroboran la edad, el grado histológico y el KPS como marcadores clínicos pronósticos.
- Se observó la aparición de astrocitoma a edades más tempranas en nuestra población.

REFERENCIAS

1. Sahm F, Capper D, Jeibmann A, Habel A, Paulus W, Troost D, et al. Addressing diffuse glioma as a systemic brain disease with single-cell analysis. *Archives of neurology*. 2012;69(4):523-6.
2. Aldape K, Zadeh G, Mansouri S, Reifenberger G, von Deimling A. Glioblastoma: pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta neuropathologica*. 2015;129(6):829-48.
3. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJ, Janzer RC, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *The Lancet Oncology*. 2009;10(5):459-66.
4. Karsy M, Neil JA, Guan J, Mahan MA, Colman H, Jensen RL. A practical review of prognostic correlations of molecular biomarkers in glioblastoma. *Neurosurgical focus*. 2015;38(3):E4.
5. Preusser M. Neuro-oncology: a step towards clinical blood biomarkers of glioblastoma. *Nature reviews Neurology*. 2014;10(12):681-2.
6. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-74.
7. Wegman-Ostrosky T, Soto-Reyes E, Vidal-Millan S, Sanchez-Corona J. The renin-angiotensin system meets the hallmarks of cancer. *Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system : JRAAS*. 2015;16(2):227-33.
8. Ager EI, Neo J, Christophi C. The renin-angiotensin system and malignancy. *Carcinogenesis*. 2008;29(9):1675-84.
9. George AJ, Thomas WG, Hannan RD. The renin-angiotensin system and cancer: old dog, new tricks. *Nat Rev Cancer*. 2010;10(11):745-59.
10. Zhao YY, Zhou J, Narayanan CS, Cui Y, Kumar A. Role of C/A polymorphism at -20 on the expression of human angiotensinogen gene. *Hypertension*. 1999;33(1):108-15.
11. Inoue I, Nakajima T, Williams CS, Quackenbush J, Puryear R, Powers M, et al. A nucleotide substitution in the promoter of human angiotensinogen is associated with essential hypertension and affects basal transcription in vitro. *J Clin Invest*. 1997;99(7):1786-97.
12. Balam-Ortiz E, Esquivel-Villarreal A, Alfaro-Ruiz L, Carrillo K, Elizalde A, Gil T, et al. Variants and haplotypes in angiotensinogen gene are associated with plasmatic angiotensinogen level in Mexican population. *The American journal of the medical sciences*. 2011;342(3):205-11.
13. Sugimoto M, Furuta T, Shirai N, Kodaira C, Nishino M, Ikuma M, et al. Role of angiotensinogen gene polymorphism on *Helicobacter pylori* infection-related gastric cancer risk in Japanese. *Carcinogenesis*. 2007;28(9):2036-40.
14. Wegman-Ostrosky T. Identificación de variantes en el gen AGT en pacientes con astrocitoma (tesis de doctorado). Universidad de Guadalajara, México. 2014.
15. Goodenberger ML, Jenkins RB. Genetics of adult glioma. *Cancer Genet*. 2012;205(12):613-21.
16. Weller M, Pfister SM, Wick W, Hegi ME, Reifenberger G, Stupp R. Molecular neuro-oncology in clinical practice: a new horizon. *The Lancet Oncology*. 2013;14(9):e370-9.
17. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta neuropathologica*. 2007;114(2):97-109.
18. de Groot JF. High-grade gliomas. *Continuum (Minneap Minn)*. 2015;21(2

Neuro-oncology):332-44.

19. Ostrom QT, Gittleman H, Fulop J, Liu M, Blanda R, Kromer C, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. *Neuro-oncology*. 2015;17 Suppl 4:iv1-iv62.
20. Thakkar JP, Dolecek TA, Horbinski C, Ostrom QT, Lightner DD, Barnholtz-Sloan JS, et al. Epidemiologic and molecular prognostic review of glioblastoma. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2014;23(10):1985-96.
21. Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *The New England journal of medicine*. 2005;352(10):987-96.
22. Delgado-Lopez PD, Corrales-Garcia EM. Survival in glioblastoma: a review on the impact of treatment modalities. *Clin Transl Oncol*. 2016.
23. Wick W, Platten M, Meisner C, Felsberg J, Tabatabai G, Simon M, et al. Temozolomide chemotherapy alone versus radiotherapy alone for malignant astrocytoma in the elderly: the NOA-08 randomised, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2012;13(7):707-15.
24. Noushmehr H, Weisenberger DJ, Diefes K, Phillips HS, Pujara K, Berman BP, et al. Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct subgroup of glioma. *Cancer Cell*. 2010;17(5):510-22.
25. Castaneda CA, Casavilca S, Orrego E, Garcia-Corrochano P, Deza P, Heinike H, et al. [Glioblastoma: Molecular analysis and its clinical implications]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2015;32(2):316-25.
26. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*. 2008;321(5897):1807-12.
27. Dang L, White DW, Gross S, Bennett BD, Bittinger MA, Driggers EM, et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature*. 2010;465(7300):966.
28. Dang L, Yen K, Attar EC. IDH mutations in cancer and progress toward development of targeted therapeutics. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2016;27(4):599-608.
29. Siegal T. Clinical impact of molecular biomarkers in gliomas. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia*. 2015;22(3):437-44.
30. Cairncross G, Wang M, Shaw E, Jenkins R, Brachman D, Buckner J, et al. Phase III trial of chemoradiotherapy for anaplastic oligodendroglioma: long-term results of RTOG 9402. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2013;31(3):337-43.
31. van den Bent MJ, Brandes AA, Taphoorn MJ, Kros JM, Kouwenhoven MC, Delattre JY, et al. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy in newly diagnosed anaplastic oligodendroglioma: long-term follow-up of EORTC brain tumor group study 26951. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2013;31(3):344-50.
32. Nabors LB, Portnow J, Ammirati M, Baehring J, Brem H, Brown P, et al. Central Nervous System Cancers, Version 1.2015. *J Natl Compr Canc Netw*. 2015;13(10):1191-202.
33. Clark KH, Villano JL, Nikiforova MN, Hamilton RL, Horbinski C. 1p/19q testing has no significance in the workup of glioblastomas. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2013;39(6):706-17.
34. Wick W, Hartmann C, Engel C, Stoffels M, Felsberg J, Stockhammer F, et al.

NOA-04 randomized phase III trial of sequential radiochemotherapy of anaplastic glioma with procarbazine, lomustine, and vincristine or temozolomide. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2009;27(35):5874-80.

35. Wiestler B, Capper D, Sill M, Jones DT, Hovestadt V, Sturm D, et al. Integrated DNA methylation and copy-number profiling identify three clinically and biologically relevant groups of anaplastic glioma. *Acta neuropathologica*. 2014;128(4):561-71.

36. von Bohlen und Halbach O, Albrecht D. The CNS renin-angiotensin system. *Cell Tissue Res*. 2006;326(2):599-616.

37. Wright JW, Harding JW. The brain renin-angiotensin system: a diversity of functions and implications for CNS diseases. *Pflugers Arch*. 2013;465(1):133-51.

38. Crowley SD, Coffman TM. Recent advances involving the renin-angiotensin system. *Exp Cell Res*. 2012;318(9):1049-56.

39. Wright JW, Harding JW. Brain renin-angiotensin--a new look at an old system. *Prog Neurobiol*. 2011;95(1):49-67.

40. Leung PS, Suen PM, Ip SP, Yip CK, Chen G, Lai PB. Expression and localization of AT1 receptors in hepatic Kupffer cells: its potential role in regulating a fibrogenic response. *Regul Pept*. 2003;116(1-3):61-9.

41. Tamarat R, Silvestre JS, Durie M, Levy BI. Angiotensin II angiogenic effect in vivo involves vascular endothelial growth factor- and inflammation-related pathways. *Lab Invest*. 2002;82(6):747-56.

42. Wolf G, Wenzel U, Burns KD, Harris RC, Stahl RA, Thaiss F. Angiotensin II activates nuclear transcription factor-kappaB through AT1 and AT2 receptors. *Kidney Int*. 2002;61(6):1986-95.

43. Sarlos S, Rizkalla B, Moravski CJ, Cao Z, Cooper ME, Wilkinson-Berka JL. Retinal angiogenesis is mediated by an interaction between the angiotensin type 2 receptor, VEGF, and angiopoietin. *Am J Pathol*. 2003;163(3):879-87.

44. Lever AF, Hole DJ, Gillis CR, McCallum IR, McInnes GT, MacKinnon PL, et al. Do inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme protect against risk of cancer? *Lancet*. 1998;352(9123):179-84.

45. Ronquist G, Rodriguez LA, Ruigomez A, Johansson S, Wallander MA, Frithz G, et al. Association between captopril, other antihypertensive drugs and risk of prostate cancer. *The Prostate*. 2004;58(1):50-6.

46. Friis S, Sorensen HT, Mellemkjaer L, McLaughlin JK, Nielsen GL, Blot WJ, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors and the risk of cancer: a population-based cohort study in Denmark. *Cancer*. 2001;92(9):2462-70.

47. Meier CR, Derby LE, Jick SS, Jick H. Angiotensin-converting enzyme inhibitors, calcium channel blockers, and breast cancer. *Arch Intern Med*. 2000;160(3):349-53.

48. Gonzalez-Zuloeta Ladd AM, Arias Vasquez A, Siemes C, Yazdanpanah M, Coebergh JW, Hofman A, et al. Differential roles of Angiotensinogen and Angiotensin Receptor type 1 polymorphisms in breast cancer risk. *Breast cancer research and treatment*. 2007;101(3):299-304.

49. Vasku A, Vokurka J, Bienertova-Vasku J. Obesity-related genes variability in Czech patients with sporadic colorectal cancer: preliminary results. *International journal of colorectal disease*. 2009;24(3):289-94.

50. Andreotti G, Boffetta P, Rosenberg PS, Berndt SI, Karami S, Menashe I, et al. Variants in blood pressure genes and the risk of renal cell carcinoma. *Carcinogenesis*. 2010;31(4):614-20.

51. Padma G, Swapna N, Mamata M, Charita B, Padma T. Risk conferred by tagged SNPs of AGT gene in causing susceptibility to essential hypertension. *Clin*

Exp Hypertens. 2014;36(8):579-85.

52. Watkins WS, Rohrwasser A, Peiffer A, Leppert MF, Lalouel JM, Jorde LB. AGT genetic variation, plasma AGT, and blood pressure: An analysis of the Utah Genetic Reference Project pedigrees. *Am J Hypertens*. 2010;23(8):917-23.

53. Celerier J, Cruz A, Lamande N, Gasc JM, Corvol P. Angiotensinogen and its cleaved derivatives inhibit angiogenesis. *Hypertension*. 2002;39(2):224-8.

54. Vincent F, Bonnin P, Clemessy M, Contreres JO, Lamande N, Gasc JM, et al. Angiotensinogen delays angiogenesis and tumor growth of hepatocarcinoma in transgenic mice. *Cancer research*. 2009;69(7):2853-60.

55. Attenello FJ, Mukherjee D, Dato G, McGirt MJ, Bohan E, Weingart JD, et al. Use of Gliadel (BCNU) wafer in the surgical treatment of malignant glioma: a 10-year institutional experience. *Annals of surgical oncology*. 2008;15(10):2887-93.

56. Wegman-Ostrosky T, Reynoso-Noveron N, Mejia-Perez SI, Sanchez-Correa TE, Alvarez-Gomez RM, Vidal-Millan S, et al. Clinical prognostic factors in adults with astrocytoma: Historic cohort. *Clinical neurology and neurosurgery*. 2016;146:116-22.

57. Rivera E, Arrieta O, Guevara P, Duarte-Rojo A, Sotelo J. AT1 receptor is present in glioma cells; its blockage reduces the growth of rat glioma. *British journal of cancer*. 2001;85(9):1396-9.

58. Choi JH, Nguyen MP, Lee D, Oh GT, Lee YM. Hypoxia-induced endothelial progenitor cell function is blunted in angiotensinogen knockout mice. *Mol Cells*. 2014;37(6):487-96.

59. Rocken C, Lendeckel U, Dierkes J, Westphal S, Carl-McGrath S, Peters B, et al. The number of lymph node metastases in gastric cancer correlates with the angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2005;11(7):2526-30.

60. Deshayes F, Nahmias C. Angiotensin receptors: a new role in cancer? *Trends Endocrinol Metab*. 2005;16(7):293-9.

61. Juillerat-Jeanneret L, Celerier J, Chapuis Bernasconi C, Nguyen G, Wostl W, Maerki HP, et al. Renin and angiotensinogen expression and functions in growth and apoptosis of human glioblastoma. *British journal of cancer*. 2004;90(5):1059-68.