



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGIA Y NEUROCIROGIA
CIENCIAS MEDICAS

**TITULO: “FACTORES HISTOPATOLOGICOS Y MOLECULARES ASOCIADOS A SOBREVIDA
PROLONGADA EN PACIENTES CON GLIOBLASTOMA MULTIFORME”**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO(A) EN CIENCIAS

PRESENTA:

MIGUEL ANGEL LOPEZ GONZALEZ

TUTOR(A):

DR. JULIO SOTELO, LABORATORIO NEUROINMUNOLOGIA INNNMVZ-UNAM

COMITÉ TUTOR:

DRA. TERESITA CORONA VAZQUEZ,

DIRECCION GENERAL INNNMVZ-UNAM

DR. OSCAR GERARDO ARRIETA RODRIGUEZ,
INCan-UNAM

DR. FIACRO JIMENEZ PONCE,
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO-UNAM

DRA. ANA LUISA VELASCO MONROY
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO-UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, D.F., 31 DE AGOSTO, 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGIA Y NEUROCIROGIA
CIENCIAS MEDICAS

**TITULO: “FACTORES HISTOPATOLOGICOS Y MOLECULARES ASOCIADOS A SOBREVIDA
PROLONGADA EN PACIENTES CON GLIOBLASTOMA MULTIFORME”**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRO(A) EN CIENCIAS

PRESENTA:

MIGUEL ANGEL LOPEZ GONZALEZ

TUTOR(A):

DR. JULIO SOTELO, LABORATORIO NEUROINMUNOLOGIA INNNMVZ

COMITÉ TUTOR:

DRA. TERESITA CORONA VAZQUEZ,
DIRECCION GENERAL INNNMVZ-UNAM

DR. OSCAR GERARDO ARRIETA RODRIGUEZ,
INCan-UNAM

DR. FIACRO JIMENEZ PONCE,
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO-UNAM

DRA. ANA LUISA VELASCO MONROY

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO-UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, D.F., 31 DE AGOSTO, 2016.

AGRADECIMIENTOS

- a) Al Posgrado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud, UNAM.
- b) Al apoyo recibido por medio de beca del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Número de Registro 185911).
- c) Al Doctor Julio Sotelo por su tutoría, guía y ejemplo en investigación en neurociencias.
- d) Al Comité Tutorial.

DEDICATORIA

a) A Sonia e Isabella por ser mi motivación diaria, por su apoyo y amor incondicional. En particular a Sonia por ayudarme y convencerme de que no hay imposibles.

b) A mis padres y hermanos por haber sembrado a temprana edad la necesidad de estudio y superación.

c) A todos mis pacientes y sus familias, en particular a aquellos que con diagnóstico de glioblastoma multiforme han depositado en mí su confianza para su atención. Para ellos he dado todo de mi parte junto con mi equipo de trabajo para proporcionarles el mejor resultado de sobrevida, y aún más importante de preservar su calidad de vida. Aún queda mucho por hacer.

| | |
|-----------------------------------------------------------------------|-----------|
| INDICE..... | 6 |
| I.-Lista de Cuadros..... | 8 |
| a)Variables Independientes..... | 8 |
| b)Variables Confusoras..... | 9 |
| II.-Resumen en español..... | 10 |
| III.-Resumen en ingles (Abstract)..... | 11 |
| IV.-Introduccion..... | 12 |
| a)Incidencia y clasificación de neoplasias intracraneales..... | 12 |
| b)Biología molecular de los astrocitomas..... | 13 |
| c)Aspectos clínico-terapéuticos..... | 14 |
| V.-Metodologia..... | 17 |
| a)Pregunta de investigación..... | 17 |
| b)Justificacion e importancia de la investigación..... | 17 |
| c)Objetivos..... | 18 |
| d)Hipotesis..... | 18 |
| e)Criterios de inclusión..... | 18 |
| f)Criterios de exclusión..... | 19 |

| | |
|-------------------------------------------------|-----------|
| g)Criterios de eliminación..... | 19 |
| h)Sesgos..... | 19 |
| i)Aspectos éticos y de bioseguridad..... | 19 |
| j)Variables independientes..... | 19 |
| k)Variablesconfusoras..... | 19 |
| VI.-Resultados..... | 20 |
| VII.-Discusión..... | 21 |
| VIII.-Conclusiones..... | 23 |
| IX.-Perspectivas..... | 24 |
| X.-Bibliografía..... | 26 |

I.-LISTA DE CUADROS

a) Variables Independientes

| VARIABLE | CONCEPTUAL | OPERACIONAL |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Edad | Años vida cronológica | Edad en años |
| Tipo de resección | Porcentaje de resección en imágenes pre y postquirúrgicas | Amplia $\geq 95\%$, parcial $<95\%$ y Biopsia |
| Inmunorreactividad EGFR, FGFR-4, p53, c-met, c-myc | Inmunorreactividad EGFR, FGFR-4, p53, c-met, c-myc | Grados: 1(0-25% positividad) 2(26-50%) 3(51-75%) 4(76-100%) |
| Densidad Vascular | Cantidad de vasos sanguíneos en áreas de viabilidad tumoral | Conteo de capilares (Factor VIII) por inmunohistoquímica en 10 campos aleatorios |
| Indice de Proliferación Celular | Cantidad de células que se encuentran en síntesis | Conteo de núcleos positivos por inmunohistoquímica para PCNA en 10 campos aleatorios |
| Indice Mitótico | Cantidad de células en fase de mitosis | Conteo celular con mitosis con H y E en 10 campos aleatorios |
| Mutaciones p53 | Mutaciones en el gen supresor tumoral p53 | PCR/SSCP |

b) Variables Confusoras

| Variable | Conceptual | Operacional |
|--------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| Manifestaciones clínicas | Focales y de hipertensión intracraneal | Focales y de hipertensión intracraneal |
| Karnofsky | Estado funcional | 0-100 |
| Dosis Radioterapia | Radioterapia convencional | ≥ 5000cGy < 5000cGy |
| Tipo de quimioterapia | Fármaco utilizado | Carmustina Cisplatino Vincristina |
| Ciclos quimioterapia | Número de ciclos | Número de ciclos |
| Sexo | Género | Género |

II.-RESUMEN

En el periodo comprendido entre 1988 y 1994 se realizó la identificación retrospectiva y análisis de los pacientes con diagnóstico de glioblastoma multiforme en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN). Se analizaron sus características clínicas, de tratamiento quirúrgico, terapéutica adjuvante, y se corroboró su diagnóstico histopatológico. Se analizó la sobrevida a dichos pacientes para separarlos en dos grupos: un grupo A de pacientes con sobrevida prolongada (mayor o igual a tres años), y un grupo B con sobrevida corta (menor a tres años). Ambos grupos están formados por pacientes con características similares en cuanto a edad, características clínicas, tamaño tumoral y tipo de tratamiento. Para determinar si los tumores de pacientes con sobrevida prolongada constituyen un subgrupo de pacientes con características histopatológicas diferentes, se planeó analizar a partir de bloques de tejido tumoral en parafina el índice mitótico, proliferación celular y densidad vascular. Dentro de los aspectos moleculares se analizó inmunoreactividad a p53, receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), y c-myc. No se encontraron diferencias significativas en los estudios realizados entre ambos grupos de pacientes.

III.-RESUMEN EN INGLES (ABSTRACT)

A retrospective analysis was conducted from 1988 to 1994 in patients with diagnosis of glioblastoma multiforme (GBM) at the National Institute of Neurology and Neurosurgery (INNN). Clinical features, surgical treatment, and adjuvant therapy were analyzed while histopathologic diagnosis was corroborated. The survival analysis was separated into two groups: Group A of patients with prolonged survival (three or more years), and Group B with short survival (less than three years). Both groups were formed by patients with similar characteristics regarding age, clinical features, tumor size and type of treatment. To determine whether tumors of patients with prolonged survival constitute a subgroup of patients with different histopathological features, analysis from tumor tissue embedded in paraffin blocks were planned to be studied for mitotic index, cell proliferation and vascular density. Within the molecular aspects, Immunoreactivity to p53, epidermal growth factor receptor (EGFR), and c-myc were performed. No significant differences were obtained between the two groups of patients.

IV.-INTRODUCCION

a) INCIDENCIA Y CLASIFICACION DE NEOPLASIAS INTRACRANEALES

Series anteriores indican que la incidencia combinada de las neoplasias intracraneales varía de 2 a 19/100,000 habitantes anualmente, dependiendo de dicha variación de la edad de los pacientes. Existe un incremento en la incidencia entre los 0 y 4 años (3.1/100,000 habitantes), otra entre los 15 y 24 años (1.8/100,000), y la mayor elevación de la misma se alcanza entre los 65 y 79 años de edad (17.9 a 18.7/100,000)(1).

México presenta una de las incidencias más bajas para el desarrollo de neoplasias intracraneales con 1.1/100,000 habitantes (2), y previamente hemos reportado que la frecuencia de los gliomas en nuestro país es menor a la descrita en otras series Anglo-Americanas y Europeas (33% vs 38 a 70%)(3). Dentro de los gliomas, el grupo de los astrocitomas se ha clasificado en tres tipos por la Organización Mundial de la Salud (OMS): 1) Astrocitoma de bajo grado de malignidad; 2) Astrocitoma anaplásico; y 3) Glioblastoma multiforme(4). Dentro de esta secuencia evolutiva las implicaciones pronósticas varían de manera dramática, debido a que la vida media es de 5 a 8 años para los astrocitomas de bajo grado, de 1.5 a 2.5 años para los anaplásicos, y de 1 año para el GBM(5,6). En el grupo del GBM encontramos que 41% de los pacientes sobreviven menos de un año, 39% de uno a dos años, 12% de dos a tres años y solo 8% sobrevive más de tres años(3). Los factores pronóstico asociados con mayor supervivencia son de menor edad (menor de 50 años), cirugía radical (resección mayor del 95% del tumor), subsecuente radioterapia y quimioterapia, así como el estado neurológico conservado previo al inicio del tratamiento(3). Aparte de

dichos factores clínicos, consideramos que el GBM de sobrevida prolongada mayor a tres años puede tener algunas propiedades biológicas intrínsecas para dicha evolución.

b) BIOLOGIA MOLECULAR DE LOS ASTROCITOMAS

La transformación neoplásica es un proceso multifactorial en el cual se pierde el control de proliferación e interacción celular normal, transformando una célula normal en una tumoral. Este proceso implica la participación de al menos dos clases de genes: oncogenes y genes supresores tumorales. Los oncogenes promueven la proliferación y crecimiento celular cuya activación resulta en un impulso exagerado de crecimiento y división celular. Por otra parte, los genes supresores tumorales son genes normales que actúan para inhibir la proliferación y crecimiento celular, cuya inactivación resulta en formación y progresión tumoral. Los astrocitomas y el GBM comparten la línea celular astrocítica de origen tumoral. A pesar de los avances recientes, hay que subrayar que la biología molecular de los tumores cerebrales se encuentra muy limitada conociéndose solo algunas alteraciones en diferentes etapas de progresión de los astrocitomas hacia el GBM, siendo de manera simplificada las siguientes (1):

1) Formación de astrocitomas de bajo grado: el gen p53 es un supresor tumoral localizado en el cromosoma 17p que tiene un papel importante en diversos procesos celulares como apoptosis, respuesta a lesión del ácido desoxirribonucleico (ADN), angiogénesis y diferenciación celular. De esta manera, mutaciones del gen p53 y pérdida de alelos del cromosoma 17p ocasionan angiogénesis tumoral en etapas iniciales de los astrocitomas.

2) Progresión a astrocitoma anaplásico: se deriva de las alteraciones de un complejo regulador del ciclo celular incluyendo al gen p16, cinasa 4 ciclina-dependiente (cdk4) y las

proteína ciclina D1. Otro factor implicado es la pérdida alélica del cromosoma 19q observada en 40% de astrocitomas anaplálicos y en GBM.

3) Progresión a GBM: los glioblastomas pueden desarrollarse *denovo* (GBM primarios) o a través de una progresión de un astrocitoma de menor grado de malignidad (GBM secundario) (7). Los GBM primarios se desarrollan en pacientes de edad avanzada y muestran sobreexpresión de EGFR, mutaciones del gen PTEN (MMAC1) identificado como gen supresor tumoral, deleciones de CDKN2A (p16) y en menor frecuencia la amplificación de MDM2. Los GBM secundarios se desarrollan en pacientes jóvenes y presentan mutaciones frecuentes en el gen p53. En general los cambios cromosómicos son ganancia del cromosoma 7, pérdida del cromosoma 9p, 10y 17p. Un hallazgo común encontrado entre 60 a 90% de pacientes con GBM independientemente del subtipo es la pérdida parcial o total del cromosoma 10 (8) (9).

c) ASPECTOS CLINICO-TERAPEUTICOS

El GBM al igual que el resto de las neoplasias intracraneales tiene una presentación clínica muy variada dependiendo de los diferentes signos y síntomas de la localización anatómica que ocupe. Existen factores intrínsecos que agravan el pronóstico de este tipo tumoral, como su alto índice de crecimiento con un ciclo celular de aproximadamente dos días lo cual ocasiona un severo edema perilesional (10); otros factores asociados son la tendencia hemorrágica, radioresistencia relativa y su alto índice de recurrencia (11).

Desde 1884 Bennett y Godlee reportaron los primeros tratamientos quirúrgicos en gliomas cerebrales (12), y es hasta 1967 en que Jelsma y Bucy demostraron que la resección quirúrgica extensa incrementa la supervivencia y mejora la calidad de vida en pacientes con gliomas malignos (13-16). Así, la resección quirúrgica continúa siendo la piedra angular en el

tratamiento de pacientes con GBM (11-12,14-16), sin embargo, a pesar de los avanzados estudios de neuroimagen esta lesión no se logra delimitar con precisión local debido a dificultades de resección tumoral completa (17).

La radioterapia ha demostrado ampliamente su eficacia terapéutica en estudios clínicos prospectivos (1) y debe indicarse en todos los casos, excepto en pacientes en etapa terminal (11). Se utiliza de 5000 a 6000 rads fraccionados en un promedio de 30 sesiones durante cinco a seis semanas (11,18,19) prefiriéndose la aplicación a campo local 2-3 cm a la periferia de los márgenes delimitados en estudios contrastados de neuroimagen (1), sin embargo, la tolerancia del tejido perilesional normal es un factor limitante a dicha modalidad terapéutica. Con respecto a la quimioterapia, se ha mostrado su utilidad al estar aunada al tratamiento quirúrgico y de radioterapia (1,20).

Actualmente se desarrollan nuevas alternativas de tratamiento con base en la inmunoterapia y genética molecular (11), pero desafortunadamente los tratamientos existentes ofrecen solo paliación y no curan a los pacientes con GBM, donde una amplia resección quirúrgica, radioterapia y quimioterapia adecuadas incrementan la supervivencia de una manera satisfactoria (3).

Hasta el momento, el pronóstico de los pacientes con GBM es pobre con un promedio de supervivencia de 16 meses (3) y solo pocos pacientes tienen una supervivencia mayor a tres años (21-23). Algunos tumores parecen tener mayor resistencia a la terapéutica establecida, así como una mayor agresividad biológica, siendo que dichos tumores no se pueden identificar en base a los factores pronósticos clásicos de edad, extensión quirúrgica, tamaño tumoral y terapéutica adyuvante (3,10,24-28).

En base a la biología molecular, las mutaciones al gen supresor tumoral p53 y la

amplificación con sobreexpresión del EGFR son las alteraciones genéticas más comunes descritas para el GBM (29,30). El gen como tal es un supresor tumoral denominado como el "guardián del genoma" actuando a través de cuatro vías celulares: 1) arresto celular en la fase G1 del ciclo celular; 2) inicio en la reparación del DNA; 3) inducción de apoptosis; y 4) promoción de la diferenciación celular (31). Otra función alternativa es producir un decremento en la expresión del antígeno de proliferación celular nuclear (PCNA) (32). Mutaciones en el gen p53 desarrollan alteraciones en el ciclo celular, inestabilidad genómica y promueven la anaplasia. El gen p53 se encuentra descrito como la más frecuente alteración genética en neoplasias en humanos (33), incluyendo neoplasias intracraneales, siendo de predominio en astrocitomas de bajo grado encontrado en 40 a 65% de los casos (34). El gen p53 se encuentra localizado en el brazo corto del cromosoma 17 en la banda 13.1 y consiste de 11 exones, encontrando que las mutaciones básicamente se presentan del exón 5 al 8, sin encontrarse hasta el momento en astrocitomas con mutaciones fuera de dichos exones (35).

Por otra parte, la amplificación o sobreexpresión del EGFR se ha observado aproximadamente en 50% de los gliomas malignos no tratados (36), y dentro de ellos en el GBM en un 37 a 38% (37), asociándose dicha sobreexpresión a un pronóstico pobre en GBM (38). Otros dos elementos asociados a un pobre pronóstico en gliomas malignos son en base a la determinación por inmunohistoquímica del receptor del factor de crecimiento fibroblástico 4 (FGFR-4) (39) y factor de crecimiento hepatocítico (HGF) (40). En base a lo anterior y reconociendo que hasta el momento se conoce solo una mínima parte en la etiología multifactorial en el desarrollo de los astrocitomas malignos, consideramos que los pacientes con GBM de sobrevida prolongada pueden tener propiedades intrínsecas identificables en su análisis molecular.

V.-METODOLOGIA

Tipo de Estudio: Observacional retrospectivo comparativo.

Area de Estudio: Pronóstico.

El presente estudio se realizó en pacientes con diagnóstico de Glioblastoma Multiforme del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de Enero de 1988 a Diciembre de 1994. Se incluyeron los pacientes que cumplieron con los criterios establecidos en el presente protocolo, dividiéndose al total de pacientes en dos grupos, siendo el grupo de estudio el de pacientes con sobrevida igual o mayor a tres años. El grupo control fue el de pacientes con sobrevida menor a tres años y fue seleccionado con características clínicas y de tratamientos similares al de estudio. En ambos grupos se realizó la obtención y confirmación del diagnóstico de las muestras histopatológicas. Posteriormente se planeó realizar el análisis molecular directamente del tejido inmerso en parafina (22,34,41); por inmunohistoquímica se realizó la determinación de sobreexpresión de EGFR, p53, y c-myc. Lo anterior fue correlacionado con análisis de sobrevida a través del método de Kaplan-Meier.

a) PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Existen diferencias en los aspectos histopatológicos y de biología molecular entre pacientes con sobrevida prolongada de glioblastoma multiforme y pacientes con mismo diagnóstico pero con sobrevida promedio?

b) JUSTIFICACION E IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACION

Por medio del presente proyecto se intentará identificar diferencias moleculares entre los pacientes con GBM que hayan presentado sobrevida prolongada y sobrevida promedio.

Se intentará obtener experiencia de aspectos moleculares de GBM no obtenida previamente en nuestro medio.

c) OBJETIVOS

Principal: Determinar diferencias histopatológicas y de inmunorreactividad para EGFR, p53, c-myc, así como la frecuencia de mutaciones del gen p53 entre glioblastomas de sobrevida corta y prolongada.

Específicos:

- Determinar influencia de aspectos histopatológicos;
- Determinar influencia de la inmunorreactividad;
- Determinar influencia de las mutaciones en p53.

d) HIPOTESIS

GBM de sobrevida prolongada:

- menor índice mitótico, de proliferación celular y densidad vascular;
- menor inmunorreactividad a EGFR, c-myc.
- mayor inmunorreactividad a p53 y mayor frecuencia de mutaciones de gen p53.

e) CRITERIOS DE INCLUSION

- 1.-Pacientes con diagnóstico confirmado de GBM en el INNN de 1988 a 1994.
- 2.-Pacientes sometidos a resección quirúrgica amplia.
- 3.-Radioterapia postquirúrgica de 50 a 60 Gy.
- 4.-Quimioterapia postquirúrgica con carmustina (BCNU).
- 5.-Pacientes con seguimiento postquirúrgico completo hasta análisis de sobrevida.

f) CRITERIOS DE EXCLUSION

- 1.-Pacientes que no fueron intervenidos quirúrgicamente debido a la localización del tumor (invasión a estructuras de la línea media o GBM multicéntrico).
- 2.-Pacientes intervenidos quirúrgicamente solo para obtención de biopsia.
- 3.-Pacientes con enfermedades sistémicas severas.

g) CRITERIOS DE ELIMINACION

- 1.-Pacientes perdidos en el periodo de seguimiento.
- 2.-No contar con la muestra específica de tejido en parafina.

h) SESGOS

- 1.-De selección: susceptibilidad (grado de enfermedades, momento en el curso de la enfermedad, tratamiento previo), muestreo, medición.

i) ASPECTOS ETICOS Y DE BIOSEGURIDAD

No se considera necesario el tener carta de consentimiento informado debido al diseño retrospectivo del estudio y a que no se realiza ninguna intervención en los pacientes respetando las normas de investigación del INNN y los principios de la declaración de Helsinki.

j) VARIABLES INDEPENDIENTES

Tabla 1

k) VARIABLES CONFUSORAS

Tabla 2.

VI.-RESULTADOS

Se encontraron 12 pacientes del Grupo A (sobrevida mayor o igual a 3 años) y 24 pacientes del Grupo B (sobrevida menor a 3 años).

Se realizó la confirmación histopatológica de las laminillas tanto por el Doctor Daniel RembaoBojorquez en el INNN, como por el Dr Ignacio Félix en el Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del ISSSTE.

El análisis por inmunohistoquímica para EGFR, p53 y c-myc se realizó en el laboratorio de Neuroinmunología con la Doctora Lucinda Aguirre Cruz.

En el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS software 10.0 (StatisticalPackageforthe Social Sciences). En el análisis epidemiológico y clínico no se encontraron diferencias para ambos grupos en cuanto a edad, sexo, índice Karnofskyquirúrgico, tipo de resección quirúrgica, y aplicación de quimio y radioterapia. Dentro de las variables clínicas se realizó el análisis de supervivencia por el método Kaplan-Meier, teniendo un promedio de 15.7 meses en el grupo de supervivencia corta (n = 24), y de 59.2 meses en el grupo de supervivencia larga (n = 12). De manera obvia,

el análisis de logaritmo de rangos mostró diferencia estadística significativa entre los grupos ($p < 0.0001$).

En el análisis de inmunohistoquímica para p53 se encontró que existe mayor expresión del mismo en el grupo de pacientes de sobrevida larga aunque sin diferencia estadística significativa (3.6 ± 0.52 vs 3.0 ± 0.78 ; $p=0.060$). De la misma manera, no se encontró diferencia alguna en el análisis de c-myc y EGFR. Quedó pendiente completar el análisis histopatológico de conteo de mitosis, proliferación vascular, inmunohistoquímica para PCNA, factor de crecimiento fibroblástico (FGFR) y de crecimiento hepatocítico (HGFR), así como el análisis de PCR para determinación de mutaciones del p53.

VII. DISCUSION

La sobrevida prolongada en pacientes con GBM es muy limitada y existen variaciones en diversos reportes de la literatura entre 1 a 5% (22). De igual manera, en los diversos reportes institucionales no se especifica si el estudio histopatológico fue sometido a evaluación adicional para confirmar el diagnóstico. Ante la posibilidad de una sobrevida prolongada en GBM, siempre se debe considerar la posibilidad de diagnóstico inicial erróneo.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) clasificó a los astrocitomas de Grado I-IV basándose en celularidad, actividad mitótica, atipia nuclear, vascularidad y necrosis (42). Desde hace más de una década es conocida la subclasificación de glioblastoma *de novo* (glioblastoma primario), o glioblastoma secundario cuando se desarrolla a partir de una lesiones de menor malignidad. En la actualidad, ambas formas de clasificación están sujetas a error ya que dependen del análisis inter e incluso intra-observador que puede variar. De igual manera, la clasificación de glioblastoma primario y secundario carece de implicaciones pronósticas.

Los aspectos clínicos como edad, índice Karnofsky o la quimioterapia existente al momento del periodo del presente estudio (BCNU-Carmustina entre 1988- y 1994 en el INNN) no lograron una significancia para predecir sobrevida prolongada, lo cual concuerda con previos estudios (23).

Al momento de la planeación de la presente investigación, anomalías del gen p53 fueron descritas en tumores cerebrales. Mutaciones del p53 fueron encontradas en 40% de los astrocitomas fibrilares difusos de bajo grado, así como en glioblastoma. Lo anterior sugería un rol del p53 en el desarrollo temprano del glioblastoma (35), sin embargo no se encontró una asociación significativa con sobrevida.

El análisis de inmunohistoquímica de nuestro estudio no logró encontrar diferencias en la expresión del gen p53, c-myc o EGFR, sin embargo hubo una discreta tendencia a mostrar sobreexpresión para el gen p53 en los pacientes con sobrevida prolongada. Lo anterior pudiera sugerir la posibilidad de progresión de una lesión de menor malignidad, sin embargo no hay una asociación definitiva.

VIII.-CONCLUSIONES

Teniendo similares condiciones clínicas e histopatológicas en pacientes con GBM, factores intrínsecos tumorales aun no completamente definidos deben ser la causa de diferencias significativas en sobrevida, así como resistencia o susceptibilidad a las diferentes formas de tratamiento.

Siendo nuestro estudio una serie relativamente pequeña, y además con la falta de varios resultados, desafortunadamente no se puede llegar a conclusiones válidas.

IX.-PERSPECTIVAS

Ha pasado más de una década desde la planeación del presente estudio. El objetivo sigue siendo el mismo de intentar identificar factores pronósticos que favorezcan una sobrevida prolongada, así como en un futuro modular dichos factores para un incremento global en la sobrevida de pacientes con glioblastoma.

Actualmente los marcadores moleculares que han ganado mayor interés en cuanto a pronóstico y respuesta terapéutica son:

- 1.-Deleción completa del brazo corto del cromosoma 1 y del brazo largo del cromosoma 10 (aunque su significado en particular en GBM es controversial) (43);
- 2.-Hypermetilación del MGMT (O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase) como factor predictivo de respuesta a quimioterapia con temozolamida o radioterapia (44);
- 3.-Mutaciones del gen 1 y 2 de isocitrato-deshydrogenasa (IDH1/IDH2)(45).

Los tres marcadores son considerados de buen pronóstico, mientras que en contraste, la pérdida del PTEN y CDKNA2A, y la amplificación del EGFR se han encontrado en tumores de mayor agresividad.

La biología molecular de tumores es una herramienta importante con cierta relevancia pronóstica en pacientes con glioblastomas, sin embargo aún se debe hacer una correlación con las características clínicas e histopatológicas.

Otras opciones terapéuticas como los anticuerpos monoclonales contra el factor A de crecimiento endotelial (Bevacizumab) ha desarrollado múltiples líneas de investigación, sin embargo no mostró relevancia en sobrevida en pacientes con reciente diagnóstico de GBM (46).

Dentro del manejo clínico, en la última década la combinación de estudios preoperatorios de imagen (tractografía, resonancia funcional en zonas elocuentes), los avances quirúrgicos (microscopía aplicada a la neuronavegación, fluoresceína intraoperatoria, cirugía en paciente despierto con mapeo cortical, aspiradores ultrasónicos, técnicas de lasser percutáneo en tumores profundos, neuroendoscopia, etc.), y los avances de radiocirugía estereotáctica permiten realizar resecciones más amplias y con menores efectos adversos.

Existen un gran número de líneas de investigación para el manejo y pronóstico de GBM. Aún falta mucho por hacer pero es crucial no ceder en el avance para poder diseñar e implementar formas de tratamiento más efectivas.

X.-BIBLIOGRAFIA

1. DeVitaVT, HellmanS, RosenbergSA. Cancer: Principles and practice of oncology. Fifth edition. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia 1997.
2. GoldbergID, KurlandLT. Mortality in 33 countries from diseases of the nervous system. *World Neurology* 1962;3:444-465.
3. Lopez-GonzalezMA, SoteloJ. Brain Tumors in Mexico: characteristics and prognosis of glioblastoma. *Surg Neurol* 2000;53:157-162.
4. KleihuesP, BurgerPC, ScheithauerBW. The new WHO classification of brain tumors. *Brain Pathology* 1993;3:255-268.
5. Daumas-DuportC, ScheithauerB, O'FallonJ, Kelly P. Grading of astrocytomas. A simple and reproducible method. *Cancer* 1988;62:2152-2165.
6. KayeAH, Laws Jr ER. Brain tumors; an encyclopedic approach. Second edition.

Churchill-Livingstone. London 2001.

7. Kleihues P, Ohgaki H. Primary and secondary glioblastoma: **1** from concept to clinical diagnosis. *Neuro-oncol* 1999;1(1):44-51.
8. Black PM, McL. Brain tumors (Two parts). *N Engl J Med* 1991;324:1471,1555.
9. Fufts D, Pedone C. Deletion mapping of the long arm of chromosome 10 in glioblastoma multiforme. *Genes Chromosomes Cancer* 1993;7:173-179.
10. Youmans JR. *Neurological Surgery. Volume 4. Fourth ed.* WBSaunders Company. Philadelphia 1996.
11. Kornblith PK, Welch WC, Bradley MK. The future of therapy for glioblastoma. *Surg Neurol* 1993;39:538-543.
12. Selby R. The surgical treatment of cerebral glioblastoma multiforme: an historical review. *J Neurooncol* 1994;18:175-182.
13. Ciric I, Rovin R, Cozzens JW, Eller TW, Vick NA, Mikhael MA. Role of surgery in the treatment of malignant cerebral gliomas. In: Apuzzo MI. *Malignant cerebral glioma. Neurosurgical topics. American Association of Neurological Surgeons* 1990;141-153.
14. Salzman M. Surviving glioblastoma: historical perspective. *Neurosurgery* 1980;7:435-439.
15. Quigley MR, Maroon JC. The relationship between survival and the extent of the resection in patients with supratentorial malignant gliomas. *Neurosurgery* 1991;29:385-389.
16. Ammirati M, Vick N, Liao YL, Ciric I, Mikhael M. Effect of the extent of surgical resection on survival and quality of life in patients with supratentorial glioblastomas and anaplastic astrocytomas. *Neurosurgery* 1987;21:201-206.

17. Rees JH, Smirniotopoulos JG, Jones RV, Wong K. Glioblastoma multiforme: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics* 1996;16(6):1413-1462.
18. Morantz RA. Radiation therapy in the treatment of cerebral astrocytomas. *Neurosurgery* 1987;20:975-982.
19. Leible SA. Teleradiotherapy: methods and expectations. In: Apuzzo ML. Malignant cerebral glioma. *Neurosurgical topics. American Association of Neurological Surgeons* 1990;159-171.
20. Fine HA, Dear KBG, Loeffler JS, Black PM, Canellos GP. Meta-analysis of radiotherapy with and without adjuvant chemotherapy for malignant gliomas in adults. *Proc Am Soc Clin Oncol* 1991;10:125 (abstract).
21. Scott JN, Rewcastle NB, Brasher PM, et al. Long-term glioblastoma multiforme survivors: a population-based study. *Can J Neurol Sci* 1998;25(3):197-201.
22. Morita M, Rosenblum MK, Bilsky MH, Fraser RAR, Rosenfeld MR. Long-term survivors of glioblastoma multiforme: clinical and molecular characteristics. *J Neurooncol* 1996;27:259-266.
23. Chandler KL, Prados MD, Malec M, Wilson CB. Long-term survival in patients with glioblastoma multiforme. *Neurosurgery* 1993;32(5):716-720.
24. Durmaz R, Erken S, Arslantas A, Atasoy MA, Bal C, Tel E. Management of glioblastoma multiforme: with special reference to recurrence. *Clin Neurol Neurosurg* 1997;99:117-123.
25. Gundersen S, Lote K, Hannisdal E. Prognostic factors for glioblastoma multiforme. Development of a prognostic index. *Acta Oncol* 1996;35(Suppl 8):123-127.

26. Medical Research Council Brain Tumor Working Party. Prognostic factors for high-grade malignant glioma: development of a prognostic index. *J Neurooncol* 1990;9:47-55.
27. Nitta T, Sato K. Prognostic implications of the extent of surgical resection in patients with intracranial malignant gliomas. *Cancer* 1995;75:2727-2731.
28. Salzman M. Epidemiology and factors affecting survival. In: Apuzzo MLJ, ed. *Malignant cerebral glioma*. Illinois: American Association of Neurological Surgeons 1990:95-109.
29. Louis DN. The p53 gene and protein in human brain tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 1994;53(1):11-21.
30. Kyritsis AP, Saha H. Epidemiology, cytogenetics, and molecular biology of brain tumors. *Curr Opin Oncol* 1993;5:474-480.
31. Fulci G, Ishii N, Van Meir EG. p53 and brain tumors: from gene mutation to gene therapy. *Brain Pathol* 1998;8:599-613.
32. Mercer WE, Shields MT, Lin D, Appella E, Ullrich SJ. Growth suppression induced by wild-type p53 protein is accompanied by selective down-regulation of proliferating cell nuclear antigen expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:1958-1962.
33. Hollstein M, Sidransky D, Vogelstein B, Harris CC. P53 mutations in human cancers. *Science* 1991;253:49-53.
34. Lang FF, Miller DC, Koslow M, Newcomb EW. Pathways leading to glioblastoma multiforme: a molecular analysis of genetic alterations in 65 astrocytic tumors. *J Neurosurg* 1994;81(3):427-436.
35. Frankel RH, Bayona W, Koslow M, Newcomb EW. p53 mutations in human malignant gliomas: comparison of loss of heterozygosity with mutation frequency. *Cancer Res*

1992;52:1427-1433.

36. Bigner SH, Burger PC, Wong AJ, et al. Gene amplification in malignant human gliomas: clinical and histopathologic aspects. *J Neuropathol Exp Neurol* 1988;47:191-205.

37. Von Deimling A, Louis

DN, Von Ammon K, et al. Association of epidermal growth factor receptor gene amplification with loss of chromosome 10 in human glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* 1992;77:295-301.

38. Hurtt MR, Moossy J, Donovan-Peluso M, Locker J. Amplification of epidermal growth factor receptor gene in gliomas: histopathology and prognosis. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992;51:84-90.

39. Yamada SM, Yamada S, Hayashi Y, Takahashi H, Teramoto A, Matsumoto K.

Fibroblast growth factor receptor (FGFR) 4 correlated with the malignancy of human astrocytomas. *Neurol Res* 2002;24:244-248.

40. Arrieta O, Garcia E, Guevara P, Garda-Navarrete R, Ondarza R, Rembao D, Sotelo J.

Hepatocyte growth factor is associated with poor prognosis of malignant gliomas and is predictor for recurrence of meningioma. *Cancer* 2002;94:3210-8.

41. Louis ON, Rubio MP, Correa BS, Gusella JM, Von Deimling A. Molecular genetics of pediatric brainstem gliomas. Application of PCR technique to small and archival brain tumor specimens. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993;52:507-515.

42. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler et al. The 2007 WHO classification of tumors of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 2007;114(2):97-109.

43. Boots-Sprenger SHE, Sijben A, Rijntjes J et al. Significance of complete 1p/19q co-deletion, IDH1 mutation and MGMT promoter methylation in gliomas: use with caution. *Modern Pathology* 2013;26:922-929.
44. Stupp R, Hegi ME, Mason WP et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolamide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 2009;10:459-466.
45. Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* 2009;360:765-73.
46. Gilbert MR, Dignam JJ, Armstrong TS, et al. A randomized trial of bevacizumab for newly diagnosed glioblastoma. *N Engl J Med* 2014;370:699-708.

