



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO FACULTAD DE MEDICINA



TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALIDAD EN
NEUROCIRUGÍA

*USO DE MARCADORES INFLAMATORIOS PARA DETERMINAR LA
DIFERENCIA ENTRE TUMOR RECURRENTE Y RADIONECROSIS EN PACIENTES
CON GLIOMAS DE ALTO GRADO.*

RESULTADOS PRELIMINARES.

ALUMNO: OBET JAIR CANELA CALDERÓN.

TUTOR: DR. SERGIO MORENO JIMÉNEZ.

SUBDIRECCIÓN DE NEUROCIRUGÍA

INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA "MANUEL
VELASCO SUÁREZ".

CIUDAD DE MÉXICO, 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

1. ÍNDICE

1. <u>Índice</u>	2
2. <u>Marco teórico</u>	3
3. <u>Pregunta de investigación</u>	19
4. <u>Enunciado de investigación</u>	19
5. <u>Planteamiento del problema</u>	20
6. <u>Justificación</u>	21
7. <u>Objetivos</u>	21
7.1 <u>Objetivo general.</u>	21
7.2 <u>Objetivos específicos</u>	22
8. <u>Hipótesis</u>	23
9. <u>Material y metodología</u>	23
9.1 <u>Diseño</u>	23
9.2 <u>Población</u>	24
9.3 <u>Criterios de selección</u>	24
9.3.1 <u>Criterios selección pacientes estudio</u>	24
9.3.2 <u>Criterios de selección pacientes control</u>	25
9.4 <u>Tamaño de la muestra</u>	26
9.5 <u>Variables</u>	26
9.6 <u>Métodos</u>	28
9.6.1 <u>Métodos primera parte</u>	28
9.6.2 <u>Métodos segunda parte</u>	28
9.6.2.1 <u>Muestras séricas</u>	28
9.6.2.2 <u>Estudios de imagen</u>	29
9.6.2.3 <u>Seguimiento</u>	29
9.7 <u>Análisis estadístico</u>	30
9.7.1 <u>Estadística descriptiva</u>	30
9.7.2 <u>Estadística inferencial</u>	30
10. <u>Resultados preliminares</u>	31
11. <u>Discusión</u>	34
12. <u>Conclusiones</u>	35
13. <u>Consideraciones éticas</u>	35
14. <u>Consideraciones financieras</u>	36
15. <u>Anexos</u>	37
15.1 <u>Alcances</u>	37
15.2 <u>Carta consentimiento informado</u>	39
15.3 <u>Definición de variables, tabla.</u>	44
16. <u>Bibliografía</u>	47

2. MARCO TEÓRICO

Los tumores cerebrales figuran entre las primeras causas de muerte en los adultos (Deorah, y col.,2006; Chakrabarti, y col., 2005; Mendoza, Cabalé y Fernández, 2004; Wrensch, y col., 2002) y son los tumores más frecuentes en adolescentes de 15 a 19 años (Cuevas, Villasís y Fajardo, 2003).

Los gliomas de alto grado son los tumores primarios del sistema nervioso central con mayor frecuencia y letalidad, confieren del 70 al 80% de estos en el adulto, con una incidencia estimada de 17,000 diagnósticos por año o 2.5 casos en 100,000 habitantes (Louis DN, y col. 2007).

El 80% de este tipo de tumores son oligodendrogliomas y astrocitomas de grado variable de malignidad. El glioma más frecuente y maligno es el glioblastoma multiforme (GBM) o astrocitoma grado IV (Wrensch, y col., 2002; Ohgaki, y col., 2004; Wrensch, y col., 2005; Ohgaki y Kleihues, 2005; Schwartzbaum, y col., 2006), cuyo pronóstico a corto plazo sigue siendo malo a pesar de los avances tecnológicos utilizados para su diagnóstico y tratamiento (Wara, 1985; Kowalczuc, y col., 1997; Pérez Ortiz, y col., 2001; Muñoz Carmona, y col., 2005).

Estos tumores están asociados con una alta mortalidad y una sobrevida media de 3 meses para el glioblastoma multiforme (grado IV), y de 18 meses para el astrocitoma anaplásico (grado III) en ausencia de tratamiento (Frankel SA y German WJ, 1958). Sin embargo, a pesar de los avances terapéuticos en los últimos años en técnicas quirúrgicas avanzadas, así como quimioterápicos de última generación, la sobrevida de los pacientes continúa siendo pobre y sin cambio respecto a la última década (Rock K, y col. 2012).

El tratamiento estándar actual para los pacientes con gliomas de alto grado incluye la resección quirúrgica máxima, seguida de quimioterapia y

radioterapia adyuvante, lo cual ofrece una sobrevida de 14.6 meses para glioblastoma y de 2-3 años para astrocitoma anaplásico (Omuro A. y DeAngelis M, 2013).

Algunos factores asociados a sobrevida elevada en los pacientes con GBM son: edad menor a 40 años, índice de Karnofsky mayor a 70% y la combinación terapéutica de radio- y quimioterapia (Hou, y col., 2006).

El aumento de sobrevida proporcionado por la radioterapia es de 100 a 150% (Sheline, 1977; Walter, y col, 1980; Walter, y col, 1988). Sin embargo, su uso causa déficit neurológico en el 2-5 % de los pacientes (Marks, y col., 1981; Shapiro, 1982; Halperin y Burger, 1985) y en ocasiones puede producir rediferenciación histopatológica, lo cual causa controversia de su uso en pacientes con gliomas de malignidad baja (Imperato, Paleologos y Vick,1990; Szeifert, y col., 2002).

La meta de los tratamientos con radiación ionizante es dirigir la mayor cantidad de radiación al tumor evitando que la dosis dirigida al tejido cerebral normal rebase los límites de seguridad. Sin embargo, aún con las dosis utilizadas convencionalmente, la radiación causa caída del cabello (epilación) temporal o permanente en los pacientes. La mejoría de las técnicas de radioterapia ha disminuido la aparición de complicaciones serias, pero sigue habiendo casos de radionecrosis cerebral. Así, se han reportado casos de necrosis masiva (Pennybacker y Russell, 1948).

La latencia de radionecrosis puede acortarse si se sube la dosis administrada, y los cambios histológicos iniciales consisten en pequeños focos de hemorragias en los capilares, y aumento de la permeabilidad capilar. Estas lesiones se extienden rápidamente a zonas no irradiadas del cerebro. En etapas tardías, las lesiones post-radiación se caracterizan por la presencia de gliosis pronunciada, degeneración progresiva y esclerosis de los vasos adyacentes. Las neuronas son afectadas solamente de manera focal y secundaria. Las meninges y sus vasos sanguíneos, así

como las estructuras superficiales como la corteza se afectan con menor frecuencia (Russell, Wilson y Tansley, 1949).

El tiempo de aparición de las lesiones va de meses a años después del tratamiento lo cual puede llevar a un diagnóstico erróneo de recurrencia del tumor original (Crompton y Layton, 1961). Se ha propuesto que las alteraciones vasculares pueden ser un factor importante en la producción de radionecrosis tardía, la cual puede simular una recurrencia del tumor primario (Ghatak y White, 1969; Eyster, y col., 1974).

Los avances en neuro-radiología e histopatología han ayudado a caracterizar la radionecrosis de una manera más precisa, además de que algunas intervenciones podrían ayudar a evitar su progresión (Dooms, y col., 1986; Chiang, McBriede, Withers y col, 1993; Pierre G y Mark G, 2003).

La incidencia de radionecrosis en el sistema nervioso central va del 5 al 24% aproximadamente dependiendo de la serie, siendo mayor en los estudios basados en autopsias, siendo la incidencia de edema inducido por radiación bastante más frecuente (Marks, y col., 1981).

Los diversos mecanismos que pudieran contribuir a la neurotoxicidad inducida por radiación incluyen daño vascular, daño a la sustancia blanca y gris, alteraciones en el sistema de enzimas de la fibrinólisis, y mecanismos inmunológicos (Kumar, y cols., 2000). En la lesión aguda inducida por radiación existe una vasodilatación transitoria con cambios variables en la permeabilidad capilar que, en ocasiones, se manifiesta como edema vasogénico (Husainy García, 1976). Los cambios en la permeabilidad capilar, en respuesta a la radioterapia del sistema nervioso central conllevan una variabilidad dependiente del tamaño de las moléculas que lo atraviesan (Levin, Edwards y Byrd, 1979; Edwards, Levin y Byrd 1979). En las lesiones crónicas inducidas por radiación los hallazgos patológicos son: daño endotelial, ectasia vascular y telangiectasias, lo cual provoca aumento de la permeabilidad capilar y edema vasogénico y citotóxico.

Existen cambios vasculares progresivos que incluyen engrosamiento de la pared del vaso por hialinización, con una trombosis resultante, infarto y necrosis (Burger y Boyko, 1991). Se sabe también que los oligodendrocitos de la sustancia blanca son extremadamente sensibles a la radiación y que su destrucción está asociada a desmielinización secundaria (Castel y Caille, 1989; Burger y Boyko, 1991). En relación a las alteraciones metabólicas, se ha descrito disminución en la glucólisis, con disminución en el consumo de glucosa, que se correlaciona con disminución de glucosa y oxígeno en los estudios de PET (Di Chiro, y col., 1988).

Sawaya estudió especímenes de tejido cerebral necrótico obtenido de pacientes radiados encontrando ausencia de activador tisular de plasminógeno y exceso de activador urocinasa del plasminógeno. La primera enzima afecta al fibrinógeno durante la coagulación sanguínea, mientras que la segunda, está activa durante la proteólisis extracelular. Los cambios encontrados en forma concomitante pudieran contribuir al edema citotóxico y al desarrollo de necrosis tisular (Sawaya, 1990).

Las variantes de radionecrosis mejor descritas presentan dos patrones: son en “queso Suizo” y en “burbujas de jabón”. El primero, se observa como alteración difusa de la sustancia blanca y la corteza adyacente que provoca reforzamiento de sus márgenes, entremezclado con focos de necrosis. El segundo, es similar, pero más pequeño (Kumar, y col., 2000).

Se ha evaluado la utilidad de diversos estudios de neuroimagen y medicina nuclear para diferenciar radionecrosis y recidiva tumoral en pacientes con gliomas malignos. Durante los últimos 40 años, el estudio de tomografía por emisión de positrones, PET (del inglés “positron emission tomography”) ha dejado de ser una herramienta utilizada exclusivamente en investigación para convertirse en una modalidad de imagen con valor clínico. En la actualidad hay una amplia gama de equipos de PET que incluyen sistemas de complejidad variable (Fahey, 2003). De igual manera, la radioquímica

asociada al PET ha ido madurando durante los últimos 20 años. Los cuatro radiotrazadores más utilizados en PET son: Fluoro-18 (^{18}F), Carbono-11 (^{11}C), Nitrógeno-13 (^{13}N) y Oxígeno-15 (^{15}O). Estos radionúclidos son isótopos de elementos que se encuentran comúnmente en los compuestos biológico (carbono, nitrógeno y oxígeno) o sirven como un reemplazo isotérico para el hidrógeno. Los radiotrazadores más utilizados son ^{11}C y ^{18}F , dado que su vida media es más larga que la de sus congéneres. En oncología el radiofármaco más utilizado es el F-18 fluorodesoxiglucosa (FDG), el cual es sintetizado de manera rutinaria utilizando [^{18}F] fluoruro en una reacción de desplazamiento fluoro alquilsulfonato $\text{S}_{\text{N}}2$.

La elevada captura de FDG a nivel cerebral de manera normal hace que la interpretación de las imágenes sea difícil en algunos casos. Esto llevó al desarrollo de nuevos radiofármacos cuya captura o localización se basara en el uso una molécula diferente a la glucosa y que tuviera mecanismos diferentes. Esto es particularmente verdadero en aplicaciones oncológicas, en donde los trazadores del PET han sido desarrollados para seguir la síntesis de proteínas de ácido desoxirribonucléico (DNA).

Se ha desarrollado una gran cantidad de aminoácidos marcados con la intención de medir los índices de síntesis de proteínas utilizando PET (Mason, y Mathis, 2003), tales como [S-metil- ^{11}C]-L-metionina y [carboxi- ^{11}C]- L-metionina, los cuales han mostrado ser útiles para delimitar tejido tumoral (Derlon 1997; Chung 2002).

A pesar de que el número de radiotrazadores para PET está en el rango de los cientos, aún queda mucho trabajo por desarrollar y en México se contaba solamente con FDG-glucosa hasta hace unos pocos años.

Tsuyuguchi y colaboradores evaluaron la utilidad clínica del Met-PET para la diferenciación entre glioma maligno recurrente (GMR) y necrosis post-radiación (NPR) después de radiocirugía estereotáctica. Estudiaron 11 pacientes con gliomas de grados III o IV, los cuales habían sido sometidos

a radioterapia concluyendo que el Met-PET es un estudio sensible y preciso para lograr la diferenciación (Tsuyuguchi, y col., 2004).

Patronas y colaboradores reportaron los resultados preliminares después de evaluar cinco casos de pacientes con diagnóstico inicial de astrocitomas grado II, quienes posteriormente presentaron deterioro neurológico encontrando que el PET con FDG-glucosa fue útil para diferenciar los casos de radionecrosis de los de recurrencia tumoral. Todos los casos fueron confirmados histológicamente mediante biopsia o autopsia (Patronas, y col., 1982).

Valk y colaboradores utilizaron PET con rubidio-82 (^{82}Rb) y fluor-18-fluorodesoxiglucosa (^{18}FDG) para diagnosticar recurrencia de tumor activo y para diferenciar la lesión secundaria a radiación intersticial en gliomas malignos, encontrando que la naturaleza funcional del PET permite hacer la diferenciación que no se logra en los estudios anatómicos de neuroimagen (Valk, y col., 1988).

Ricci y colaboradores concluyeron en su estudio que el PET-FDG tiene una utilidad limitada para la diferenciación entre recurrencia tumoral y radionecrosis, encontrando que se pueden presentar tanto falsos positivos como falsos negativos que contribuyen a valores inaceptablemente bajos de sensibilidad y especificidad (Ricci, y col., 1998).

En otro estudio realizado por Thompson y colaboradores se concluyó que el PET-FDG es insuficiente para diferenciar entre radionecrosis y progresión tumoral (Thompson, Lunsford, y Kondziolka, 1999).

Se han realizado más estudios para valorar la utilidad del PET ya sea con FDG o con Metionina para lograr el diagnóstico diferencial con resultado svariables (Lilja, y col., 1989; Ogawa, y col., 1991; Dethy, y col., 1994; Ogawa, y col., 1995 A; Ogawa, y col., 1995; Sonoda, y col., 1998; DeWitte, y col., 2001; Tsuyuguchi, y col., 2003).

Chao y colaboradores hicieron una gran aportación al demostrar que al hacer un co-registro entre la IRM y el PET-FDG se mejora la sensibilidad, haciéndolo una herramienta útil para diferenciar entre radionecrosis y recurrencia de metástasis cerebrales (Chao, y col., 2001).

En algunas ocasiones no son suficientes las secuencias convencionales de IRM para lograr diferenciar entre dos entidades diferentes. Tal es el caso de la radionecrosis y la recurrencia tumoral, en el cual es necesario hacer uso de técnicas de imagen molecular como la espectroscopia (Bruhn, y col., 1989; Leyten, y col., 1990; Gill, y col., 1990; Sappey-Mariner, y col., 1992; Fulham, y col., 1992; Castillo, Kwock, y Suresh, 1996; Hyun, y col., 1997;). Mediante este estudio es posible saber la composición molecular de la estructura que se está analizando ya que da un patrón muy característico en cada caso. Así, es posible diferenciar lesiones inflamatorias de neoplasias malignas o benignas y de lesiones inducidas por radiación (Glickson, 1989; McBride, y col., 1995; Castillo, Kwock, y Kim, 1998; Andrew, y col., 1998; Meng, y col., 2002; Ping, y col., 2002).

La espectroscopia por IRM ha sido utilizada para intentar predecir la naturaleza de la patología y la evolución clínica en pacientes con tumores cerebrales. Lin y colaboradores reportaron que en el 96% de los casos estudiados se logró establecer una predicción precisa con este método (Lin, Bluml, y Mamelak, 1999). Wald y colaboradores reportaron la utilidad de la espectroscopia por IRM para detectar cambios metabólicos después del tratamiento de tumores cerebrales. La espectroscopia mostró diferencias significativas entre la presencia de tumor residual o recurrente y la necrosis inducida por radiación.

Las regiones con niveles anormalmente elevados de colina (Cho), consistentes con viabilidad tumoral, fueron detectados más allá de las regiones que reforzaban con contraste. Reportaron cambios en los estudios subsecuentes de espectroscopias después del tratamiento reflejando una

alteración del metabolismo. Estos cambios incluyeron una reducción significativa de Cho después del tratamiento, indicando la transformación del tumor en tejido necrótico. Asimismo, los pacientes con progresión clínica presentaron incremento de niveles de Cho en sitios que previamente aparecían con niveles normales o de necrosis (Wald, y col., 1997).

En un estudio realizado por Dowling y colaboradores se correlacionaron los niveles de metabolitos de la espectroscopia por resonancia magnética preoperatoria con los hallazgos histopatológicos de la biopsia guiada por imagen. Todas las lesiones estudiadas mostraron un espectro anormal en comparación con el parénquima normal. Cuando el patrón de los metabolitos de la espectroscopia consistió en una elevación anormal de la colina Cho y disminución del N-acetil aspartato (NAA), los hallazgos histológicos de la biopsia invariablemente fueron positivos para tumor. Cuando la Cho y el NAA estaban por debajo del rango normal, los hallazgos histológicos fueron variables, yendo desde radionecrosis, astrogliosis e infiltración por macrófagos hasta tejidos mixtos que contenían grados bajos, intermedios o altos de tumor (Dowling, y col., 2001).

La difusión por IRM es fundamentalmente diferente a las secuencias de T1 y T2 de la IRM. De hecho, los principios físicos que subyacen a la difusión hacen que sea más fácil de entender. Las secuencias de T1 y T2 de IRM se basan en el tiempo que se tardan las moléculas en regresar a su estado original de reposo después de haber recibido una serie de excitaciones. La difusión de la IRM se basa en la habilidad para pintar visualmente la velocidad relativa a la cual las moléculas de agua difunden en el tejido. En el cerebro humano la difusión es mayor en los ventrículos donde hay pocas barreras para la difusión de las moléculas de agua. La difusión de las moléculas en el parénquima cerebral es significativamente más lenta debido a la presencia de varias estructuras como membranas y capas de mielina, que impiden la translación de las moléculas de agua. De esta manera, los

ventrículos aparecerán hipointensos en relaciónal parénquima cerebral (Holodny y Ollenschlager, 2002).

Existen estudios como el de Kumar y colaboradores que enfatizan la dificultad que existe en la diferenciación de estas dos entidades mediante el uso de resonancia magnética. Ellos estudiaron una cohorte de 148 pacientes con diagnóstico de glioma maligno, y que se trataron con radioterapia acelerada y carboplatino concomitante, seguido de quimioterapia con procarbazona, lomustina y vincristina. Les hicieron un seguimiento estrecho con imágenes de resonancia magnética y confirmaron diagnóstico de radionecrosis histológicamente en 36 pacientes.

Las imágenes en secuencia de T2 no fueron útiles para diferenciar radionecrosis de recurrencia tumoral. Las características comunes y poco comunes de la radionecrosis las describen como presencia de radionecrosis simulando una recurrencia tumoral en el sitio de la cavidad quirúrgica del tumor original, distante al tumor original pero ipsilateral, o en el lado contralateral, y de múltiples masas de radionecrosis simulando metástasis múltiples o esclerosis múltiple (Kumar, y col., 2000).

Sugahara y colaboradores estudiaron los índices de volumen sanguíneo cerebral relativo o rCBV (del inglés "relative cerebral blood volume") y los índices de Thallio del estudio de tomografía por emisión de fotón único con ²⁰¹Tl (²⁰¹Tl- SPECT) en 20 y 12 pacientes respectivamente, para determinar si las imágenes que reforzaban en la resonancia magnética se trataban de recurrencias o no. Solamente en cinco casos hubo una verificación histológica del resultado final, mientras que en el resto de los casos el diagnóstico final se definió de acuerdo a la evolución por imagen de resonancia magnética, tomándose como recurrencia si había crecimiento de la lesión o como tejido con reforzamiento no neoplásico si había estabilidad o disminución de tamaño. Los resultados demostraron que si los rCBV normalizados eran mayores a 2.6 o menores a 0.6, las

lesiones que reforzaban se trataban de recurrencia o tejido no neoplásico respectivamente.

Todas las lesiones no neoplásicas con reforzamiento tuvieron un índice de Thallio bajo, mientras que tres de cuatro recurrencias tuvieron un índice alto. La conclusión del estudio es que si una lesión con reforzamiento presenta el rCBV normalizado mayor a 2.6 o menor a 0.6 puede sugerir recurrencia o tejido no neoplásico respectivamente sin que sea necesario realizar un examen con 201TI-SPECT. Sin embargo, cuando el resultado se encuentra entre estos dos números, el uso de 201TI-SPECT puede ser útil en la diferenciación (Suguhara, y col., 2000). Los estudios de IRM con difusión pueden ayudar a estudiar las características propias del tumor y ayudar a diferenciarlo de abscesos cerebrales (Krabbe, y col., 1997; Kim, y col., 1998).

Hein y colaboradores mostraron que el estudio de difusión es útil para diferenciar recurrencia o no recurrencia de un tumor. Ellos midieron los coeficientes aparentes de difusión o ADC (del inglés "apparent diffusion coefficient") por resonancia magnética (IRM) para caracterizar y diferenciar las características morfológicas del edema, la necrosis y el tejido tumoral en pacientes con gliomas de alto grado ya tratados. Hicieron un estudio retrospectivo de 18 pacientes que presentaban áreas de reforzamiento con el contraste en las IRM. Midieron tanto los valores ADC como los índices ADC (ADC de lesión con reforzamiento a ADC de la sustancia blanca contralateral) y los compararon contra el resultado del diagnóstico final. La recurrencia fue establecida ya sea por examen histopatológico o por el curso clínico de la enfermedad en combinación con los estudios de imagen (siete y 11 pacientes respectivamente). Los pacientes con recurrencia y no recurrencia pudieron diferenciarse utilizando las medias de los valores ADC así como los índices ADC. Los índices ADC en el grupo de recurrencia fueron significativamente menores a los del grupo de no recurrencia (Hein, y col., 2004).

Chan y colaboradores demostraron que los ADC de las lesiones inducidas por radiación fueron significativamente mayores que las del parénquima cerebral normal. Encontraron una asociación entre los ADC bajos en las zonas con reforzamiento de contraste y el deterioro morfológico (Chan, y col., 2003). A pesar de los avances en los estudios de imagen y medicina nuclear antes mencionados, no se ha logrado diferenciar entre radionecrosis y recurrencia tumoral de una manera fidedigna. La controversia en el alcance real de todos los estudios mencionados aún permanece.

Existen marcadores séricos que apoyan la presencia de procesos inflamatorios activos en el cerebro, secundarios a la presencia de un tumor, tales como las interleucinas proinflamatorias (IL-1, IL-4, y FNT-alfa), así como el óxido nítrico.

El óxido nítrico (NO), cuya estructura química es la de un gas radical simple soluble en agua y lípidos, actúa en el cerebro como un segundo mensajero intraneuronal así como neurotransmisor. El NO cerebral se forma del aminoácido arginina por acción de la sintasa de óxido nítrico tipo I (NOS-1). La NOS-1 está presente en algunas regiones del cerebro, particularmente: el estriado, el hipotálamo, el lóbulo orbitario y el cerebelo. La vía metabólica más conocida como productora de NO, comienza con la activación del receptor para glutamato del N-metil-D aspartato (NMDA).

La activación de este receptor, ocasiona el influjo de calcio hacia la neurona y la activación por calcio de la NOS-1, que genera NO a partir de la arginina, la cual a su vez se forma a partir de la citrulina. El NO intraneuronal actúa en la molécula de hierro contenida en la guanilato ciclasa e interviene en la formación de guanosin monofosfato cíclico (GMPc), una potente molécula que actúa como segundo mensajero, ésta activa a proteíncinasas específicas y conduce en última instancia a la desfosforilación de las cadenas ligeras de miosina produciendo relajación muscular, lo cual, se

traduce en mayor perfusión regional (Moncada, 1993; Anggard, 1994; Morikawa, 1994; Gally, 1990; Iadecola 1994). Debido a sus propiedades gaseosas, el NO puede difundir también a las neuronas adyacentes, en las que también resulta en la formación de GMPc. El metabolismo del óxido nítrico, da lugar a nitritos y nitratos, los cuales pueden medirse en plasma, orina, o líquido cefalorraquídeo (Pérez-Neri, 2006).

Eventos tales como el ejercicio, la diarrea y la fiebre incrementan los niveles de dichos metabolitos (Moncada, 1993); así mismo, se elevan en enfermedades inflamatorias; los resultados obtenidos en padecimientos neurodegenerativos son controvertidos (Farrel, 1992; Milstien, 1994; Ikeda, 1995). A diferencia de otros neurotransmisores, el NO no se almacena en vesículas sinápticas, ni se libera necesariamente con la despolarización. Sus receptores son, posiblemente, el hierro y otras moléculas reactivas, y no los receptores protéicos convencionales.

En la actualidad, un método utilizado con frecuencia para evaluar si existe participación del óxido nítrico en las enfermedades del sistema nervioso central es la medición de sus metabolitos (nitritos y nitratos), en líquido cefalorraquídeo, mediante la técnica conocida como cromatografía de fase reversa con detección ultravioleta (Zecca, 1998).

Clasificar las citocinas es difícil, pero, se pueden agrupar en 4 grupos funcionales de acuerdo al sitio o fase específica de la respuesta inmune en la que actúen, así:

1. Citocinas pro-inflamatorias, actúan en la respuesta inmune innata, inespecífica o inflamación.
2. Citocinas que favorecen el desarrollo de inmunidad celular y/o citotóxica.
3. Citocinas que favorecen la producción de las diversas clases de inmunoglobulinas o inmunidad humoral y
4. Citocinas con funciones extra- inmunológicas y/o homeostáticas.

1. Citocinas en Inflamación: Las principales citocinas que actúan en la respuesta inespecífica o inflamación son: Interleucina 1, Factor de Necrosis Tumoral Alfa, Interleucina 8, Interleucina 12, Interleucina 16 e Interferones 10, 11, 12, todas ellas son pro-inflamatorias. IL-6 e IL-12, además, actúan en la inmunidad específica, IL-6 es un factor autocrino de linfocitos B mientras que IL-12 estimula la inmunidad celular citotóxica.

2. Dos son las principales citocinas de Inmunidad Celular o Th1: Interferón gamma o tipo 2, llamado también interferón Inmune porque solo es producido por células inmunológicas activadas; la otra citosina es Interleucina 2 o Factor de Crecimiento de Células T (IL-2 o TCGF). IFN-alfa es el principal activador de macrófagos y células citotóxicas T y NK. Interesantemente IFN alfa tiene acción en la Inmunidad Humoral, induciendo la producción de IgG. IL-2 descubierta en 1977 por Robert Gallo (co-descubridor del VIH) es el factor autocrino de crecimiento de las células T, esencial para mantener viables los cultivos de linfocitos T, también genera células citotóxicas especialmente NK y macrófagos antitumorales) (Barksby HE, 2007).

3. Citocinas de Inmunidad Humoral: La Inmunidad humoral se caracteriza por la secreción de anticuerpos por los linfocitos B o células plasmáticas, las cuales son moduladas por las siguientes citocinas: Interleucina 4 o factor estimulante de células B (IL-4 o BCSF), Interleucina 5 (IL-5), Interleucina 6 (IL-6), Interleucina

10 (IL-10) e interleucina 13 (IL-13). Estas linfocinas son secretadas por linfocitos del tipo Th2, linfocitos B, mastocitos, eosinófilos y algunas por macrófagos (IL-6, IL-13).

4. Las que tienen poco efecto por sí solas pero que inhiben o hacen sinergia funcional de otras citocinas (stem cell factor (SCF), IL-6, IL-1) (Dinarello CA, 2005).

En este trabajo se enfatiza en IL-1, IL-4 y FNT-alfa, ya que estos marcadores séricos apoyan la presencia de procesos inflamatorios activos en el cerebro, secundarios a la presencia de un tumor.

La IL-1 es un mediador clave en la respuesta inflamatoria ocasionando fiebre, neutrofilia y producción de proteínas de fase aguda. Codificada en el cromosoma 2, históricamente fue una de las primeras citocinas descubiertas. La IL-1 es liberada por los macrófagos, monocitos, y células dendríticas en respuesta al factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa). Se conocen tres formas:

La IL-1 α es mayormente intracelular y termina adherida a la membrana celular con efectos paracrinós en el entorno de la célula secretora (Chakrabarti I, 2005).

La IL-1 β es secretada a la circulación e interacciona con dos tipos de receptores: Tipo I: se encuentran sobre la mayoría de las células del cuerpo y parece ser el mediador de las respuestas clásicas de la IL-1; Tipo II: se encuentran sobre linfocitos B, neutrófilos, monocitos y células de la médula ósea (Mendoza A, 2004).

La IL-1RA Es inhibitoria sobre las otras dos formas actuando como antagonista impidiendo la unión de IL-1 α y β a sus respectivos receptores.

La interleucina-1 tiene acciones estimuladoras, así como inhibitorias, sobre diversos tipos celulares e incluso promueve la apoptosis de otras. Entre sus funciones principales están: efectos pro-inflamatorios producto de la liberación de histamina por mastocitos, causando vasodilatación y los signos de inflamación localizada. Tiene actividad quimotáctica sobre los granulocitos.

Es un pirógeno endógeno causando fiebre por liberación de prostaglandinas. Junto con la IL-6 causa elevación de las proteínas

hepáticas de fase aguda (fibrinógeno y proteína C reactiva). Actúa sobre el sistema nervioso central produciendo sueño y anorexia durante procesos infecciosos por el efecto del óxido nítrico. Ese mismo efecto inhibe la contracción de la musculatura lisa de las arterias y del músculo cardíaco.

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) es una hormona glicopeptídica formada por 185 aminoácidos, que procede de un propéptido formado por 212 aminoácidos. Algunas células sintetizan isoformas más cortas de la molécula. Genéticamente el TNF está relacionado con el cromosoma 7p21.

El TNF α está relacionado con el endotelio y otros tejidos en el transcurso de distintas agresiones celulares como infecciones. Su estimulación está relacionada con otros mediadores celulares como la interleucina 1 y endotoxinas bacterianas. El TNF ejerce distintas funciones en diferentes órganos, como la activación de la producción de otros mediadores como las interleucinas 1 a la 6.

En el hipotálamo: estimula el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal estimulando la liberación de hormona liberadora de corticotropina. En el hígado: estimula de respuesta aguda de la inflamación, activando la síntesis de proteína C reactiva y otros mediadores celulares.

En otros órganos: Aumenta la resistencia a la insulina. La liberación de TNF- α produce activación local del endotelio vascular, liberación de óxido nítrico con vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular, que conduce al reclutamiento de las células inflamatorias, inmunoglobulinas y complemento, provocando la activación de los linfocitos T y B. También aumenta la activación y adhesión plaquetaria y, probablemente, la oclusión vascular sea la causa de la necrosis tumoral, de donde proviene su nombre. Las funciones del TNF se deben a su unión a 2 receptores celulares diferentes que se localizan en diferentes células como neutrófilos.

Estudios demuestran cambios en la expresión de citocinas particulares del microambiente tumoral, para este efecto, un estudio realizado por Hambardzumyan (2016) sugiere que los gliomas son tumores complejos compuestos por células neoplásicas y no neoplásicas que contribuyen individualmente a la progresión y formación, e incluso a respuesta al tratamiento. Entre las células no neoplásicas juegan un papel importante los macrófagos asociados a tumores (MAT) quienes se reclutan entorno al glioma y pueden liberar una amplia gama de factores de crecimiento y citocinas para promover la proliferación, supervivencia y migración tumoral, para el fenotipo proinflamatorio se requiere la estimulación de receptor 4 tipo Toll (TLR4) e INF-gama, producen un aumento en moléculas del patrón proinflamatorio, por ejemplo, FNT alfa, IL1 (beta), existe así mismo, un patrón alternativo antiinflamatorio por la activación de IL-4, IL-10 e IL-13, en cuyo caso producen factor de crecimiento transformante beta e IL-10.

Kaminska (2020), confirma la importancia que ejerce el factor de crecimiento transformante tipo beta en la regulación y supervivencia de las células de los gliomas, mediante apoyo directo al crecimiento tumoral manteniendo la autorrenovación de células tumorales e inhibiendo la inmunidad antitumoral.

En un estudio sugiere el papel dual de la IL-10 en muchos de los tumores, en particular, puede haber un aumento en la producción de IL-10 en gliomas que a su vez estimula a los MAT que expresan una supresión al sistema inmunológico, por otra parte, pueden promover el crecimiento, progresión e invasión de células de glioma después de tratamiento en base a IL-10 mediante regulación positiva de KPNA2 in vitro. Estudios han asociado la elevación de FNT alfa con disminución en la sobrevida. Bajo este supuesto se han asociado patrones de citosinas proinflamatorias elevadas y antiinflamatorias con tendencia a disminución en pacientes con presencia o recurrencia de lesión tumoral, no obstante, no hay estudios de asociación de perfiles de expresión de citocinas en pacientes con radionecrosis.

En este trabajo se pretende evaluar la utilidad de la determinación de marcadores séricos para la diferenciación entre radionecrosis y recurrencia tumoral.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿El patrón de expresión de citocinas inflamatorias determinan la diferencia de recurrencia en pacientes con gliomas de alto grado en comparación con los pacientes que presentan radionecrosis?

4. ENUNCIADO DE INVESTIGACIÓN.

- Las citocinas inflamatorias son diferentes en los sujetos sanos en comparación con los pacientes con gliomas de alto grado.
- Las citocinas inflamatorias son diferentes en los pacientes con recurrencia tumoral en comparación con los pacientes con radionecrosis.

5. *PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.*

Actualmente, determinar con precisión las diferencias entre radionecrosis y tumor recurrente en los pacientes con diagnóstico de gliomas de alto grado que son tratados con radioterapia fraccionada es difícil y propone un verdadero reto a pesar de los avances en neuroradiología y medicina nuclear.

Ambas lesiones comparten varias similitudes como la proximidad al sitio del tumor original, áreas en secuencia T2 de la resonancia magnética que pudieran consistir en varios grados de edema vasogénico, gliosis y neoplasia, reforzamiento subsecuente a la administración de gadolínico y diferentes grados de efecto de masa que dificultan su oportuna diferenciación.

En caso de diagnosticarse radionecrosis el tratamiento puede variar e ir desde observación, tratamiento con corticoesteroides a dosis elevadas o tratamiento antiedema, y en algunos casos extremos la resección quirúrgica del área necrótica. Por otro lado, en caso de diagnosticarse recidiva tumoral, nos obliga a ofrecer un tratamiento más radical como pudiera ser una nueva cirugía resectiva en caso de estar accesible y en área no elocuente, o una reirradiación con terapia conformal fraccionada o con radiocirugía.

No hay estudios preliminares que definan estas diferencias bioquímicas entre estas dos formas de evolución.

6. JUSTIFICACIÓN.

Los gliomas de alto grado continúan siendo los tumores más letales del sistema nervioso central, por lo tanto, diferenciar oportunamente entre radionecrosis y progresión tumoral son imperativos para determinar un tratamiento que impacte en la sobrevida de los pacientes. Sin embargo, establecer las diferencias entre radionecrosis y progresión tumoral conllevar un reto diagnóstico a pesar de los avances en estudios de imagen y clínicos. Este estudio es innovador ya que no se han reportado estudios con resultados contundentes que comparen los niveles de citocinas en pacientes con gliomas de alto grado y radionecrosis.

Por lo referido, este estudio permitirá determinar los niveles bioquímicos de citocinas inflamatorias que apoyarán definir oportunamente estas diferencias y será parteaguas para subsecuentes estudios enfocados en el diagnóstico y tratamiento más fidedignos que impacten en la sobrevida de los pacientes.

7. OBJETIVOS

7.1 OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la utilidad de los niveles séricos de citocinas proinflamatorias para diferenciar entre radionecrosis y recurrencia tumoral.

7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar los niveles séricos de las citocinas en sujetos sanos.
- Determinar los niveles séricos de las citocinas en pacientes con gliomas de alto grado.
- Comparar los niveles séricos de citocinas en una cohorte de pacientes con glioma de alto grado seguidos en el tiempo y que desarrollan recurrencia tumoral o radionecrosis.
- Determinar las citocinas de patrón proinflamatorio (IL-1 beta, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12 y FNT-alfa) y antiinflamatorio (IL-4, IL10, IL-13 y FTC- β) en pacientes con recurrencia.
- Determinar las citocinas de patrón proinflamatorio (IL-1 beta, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12 y FNT-alfa) y antiinflamatorio (IL-4, IL10, IL-13 y FTC- β) en pacientes con radionecrosis.
- Comparar citocinas de patrón proinflamatorio (IL-1 beta, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12 y FNT-alfa) y antiinflamatorio (IL-4, IL10, IL-13 y FTC- β) en pacientes con recurrencia en comparación con los pacientes que presentan radionecrosis.

8. **HIPÓTESIS.**

HIPÓTESIS NULA: El patrón de expresión de los niveles séricos de citocinas inflamatorias es igual y no determinan diferencias en pacientes con recurrencia tumoral y pacientes con radionecrosis.

HIPÓTESIS ALTERNA: El patrón de expresión de los niveles séricos de citocinas inflamatorias es diferente y determinan diferencias en pacientes con recurrencia tumoral y pacientes con radionecrosis.

9. **MATERIAL Y METODOLOGÍA.**

9.1 DISEÑO.

ESTUDIO DIAGNÓSTICO.

PRIMERA PARTE:

Diseño transversal analítico. Comparación de sujetos sanos con pacientes con gliomas de alto grado.

SEGUNDA PARTE:

Diseño de mediciones repetidas analítico (seguimiento de pacientes hasta desarrollo de radionecrosis o recurrencia tumoral).

9.2 POBLACIÓN.

Pacientes del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía “Manuel Velasco Suárez”.

9.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN PARA PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE GLIOMA DE ALTO GRADO.

9.3.1 CRITERIOS DE SELECCIÓN PARA PACIENTES EN ESTUDIO.

Criterios de inclusión:

- 1) Diagnóstico histopatológicamente confirmado de glioblastoma o astrocitoma anaplásico.
- 2) Que hayan recibido radioterapia como tratamiento adyuvante.
- 3) Que acepten participar en el estudio mediante la firma del consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

- 1) Que no acepten participar en el estudio.
- 2) Que presenten alguna comorbilidad (p.ej., infecciosa al momento de la toma de la muestra de sangre).

Criterios de eliminación:

1. Que presenten hemólisis de la muestra de suero.
2. Que presentan alguna comorbilidad (p.ej., infecciosa al momento de la toma de la muestra de sangre).
3. Abandono de seguimiento.

9.3.2 CRITERIOS DE SELECCIÓN PARA PACIENTES CONTROL

Criterios de inclusión:

1. Pacientes que no se conozca con diagnóstico de glioma.
2. Pacientes sin comorbilidad oncológica.
3. Pacientes sin patología oncológica.

Criterios de exclusión:

1. Que no acepten participar en el estudio.

Criterios de eliminación:

1. Que presenten hemólisis de la muestra de suero.

9.4 TAMAÑO DE LA MUESTRA.

Se estiman al menos 13 pacientes para el cálculo muestral epidemiológico, con margen de error de 5%, intervalo de confianza 95%, sin embargo, incluiremos al menos 20 pacientes en cada brazo dado que se incluirán a todos los pacientes que cumplan los criterios de selección en el periodo de tiempo del estudio.

9.5 VARIABLES.

- Variable dependiente:

Niveles séricos de citocinas:

- Citocinas proinflamatorias (Th1): IL-1 beta, IL-2, IL-6, IL-7, IL-8, IL-12 y FNT-alfa (factor de necrosis tumoral alfa).
- Citocinas antiinflamatorias (Th2): IL-4, IL10, IL-13 y FTC- β (factor transformador de crecimiento β).

- Variable independiente:

Tipo de paciente (recurrencia vs radionecrosis).

- Otras variables:

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	ESCALA DE MEDICIÓN
Niveles séricos de TNF-alfa	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numerica Continua
Niveles séricos de FTC-β	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numerica Continua
Niveles séricos de IL-1beta	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numerica Continua
Niveles séricos de IL-4	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numerica Continua
Niveles séricos de IL-6	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numerica Continua
Niveles séricos de IL-7	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numerica Continua
Niveles séricos de IL-8	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numerica Continua
Niveles séricos de IL-10	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numerica Continua
Niveles séricos de IL-12	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numerica Continua
Niveles séricos de IL-13	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numerica Continua

Variables <u>confusoras</u>			
Sexo	Femenino. Masculino.	Condición orgánica, masculina o femenina, de los animales y las plantas.	Nominal <u>Dicotómica</u>
Comorbilidad	Enfermedades <u>crónicasdegenerativas</u> . Enfermedades autoinmunes	Coexistencia de dos o más enfermedades en un mismo individuo.	Nominal <u>Politómica</u>
Edad	Años cumplidos al momento del <u>diagnóstico</u> o inicio del estudio (controles)	Tiempo que ha vivido una persona.	<u>Numérica</u> Discreta
Índice de Masa Corporal	Calculado al momento de la toma de la muestra.	IMC= peso en kg/ altura en metro al cuadrado	<u>Numérica</u> Continua

9.6 MÉTODOS

9.6.1 PRIMERA PARTE.

Se medirán las citocinas séricas en 20 sujetos sanos y en 20 pacientes con gliomas de alto grado, y se compararán los resultados.

9.6.2 SEGUNDA PARTE.

Al incluir a cada paciente, se tomará una muestra de sangre periférica para la determinación de las citocinas mencionadas antes de operarse y antes de recibir cualquier modalidad de tratamiento.

De manera paralela se medirán las mismas citocinas en sujetos sanos quienes conformarán el brazo control.

9.6.2.1 Muestras séricas de citocinas.

Una vez el paciente haya recibido tratamiento con radiación ionizante, después de haber sido diagnosticado y operado, se tomará muestra de sangre para la medición de los marcadores bioquímicos que se tomarán en cuenta como mediciones basales. Posteriormente se tomarán

muestras nuevamente a los 3, 6, 9, 12 meses. La toma de muestras séricas será llevada a cabo como parte de rutina de control por personal de enfermería o en su caso por residente de neurocirugía a cargo.

9.6.2.2 Estudios de imagen.

A los pacientes se les realizarán para su seguimiento estudios de imagen de resonancia magnética con protocolo SPGR, con perfusión, difusión, espectroscopia a cargo del servicio de neuro-imagenología como parte del control postquirúrgico en pacientes con gliomas de alto grado.

En el postquirúrgico temprano (primeras 48-72 horas) se realizará un estudio de resonancia magnética basal para su ulterior seguimiento.

9.6.2.3 Seguimiento.

Para el seguimiento, el paciente será captado en la consulta externa de neurocirugía y radioneurocirugía a cargo de residentes correspondientes. Finalmente, se realizarán estudios de IRM cada tres meses, hasta los 12 meses de seguimiento o antes según el desenlace clínico de los pacientes. Estos estudios serán analizados e interpretados a cargo de residente y adscrito de neurocirugía, así mismo, radioneurocirugía, en conjunto con la interpretación dada por servicio de neuro-imagenología.

Si durante el seguimiento presenta una zona de reforzamiento que obligue a diferenciar entre recurrencia tumoral y radionecrosis, se realizarán los estudios complementarios como mencionamos más adelante y se seguirá en el tiempo de manera longitudinal para determinar la evolución, la cual se utilizará como referencia la sobrevida del paciente. Se dividirán en pacientes con sobrevida corta y sobrevida larga tomando como punto de corte la mediana de sobrevida. Los primeros se tomarán en cuenta como recurrencia tumoral, mientras que los segundos como radionecrosis.

Para la determinación de sospecha de radionecrosis y de progresión tumoral de usarán como apoyo los estudios de IRM con difusión, perfusión y espectroscopia, así como el uso de tomografía por emisión de positrones PET (positron emisión tomography), en caso de requerir reintervención quirúrgica se tomará la confirmación patológica como referencia estándar para confirmar el diagnóstico.

9.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

9.7.1 Estadística descriptiva.

Para el análisis descriptivo utilizaremos medidas de tendencia central y dispersión para variables continuas como media y desviación estándar para edad, IMC y niveles de citocinas séricas, mínimo y máximo según correspondan, así mismo, mediana y rango para variables ordinales. Para analizar la distribución de las variables se utilizará la prueba de normalidad de Kolmogórov-Smirnov (o Levine).

9.7.2 Estadística inferencial.

Utilizaremos la Prueba Exacta de Fisher para comparación de sexo entre sujetos sanos y pacientes.

Usaremos la Prueba de U de Mann-Whitney, t de student o prueba estadística que corresponda para comparación de IMC en ambos grupos dependiendo la distribución si se trata de pruebas paramétricas o no paramétricas, así como para la comparación de citocinas.

Utilizaremos la Prueba de rangos con signo de Wilcoxon para comparación entre niveles de citocinas basales y a los 3, 6, 9, 12 meses.

Las pruebas se interpretarán con su nivel de significancia estadísticas correspondientes, considerándose significativas p igual o menores a 0.05. Se utilizará para esto el programa estadístico IBM SPSS Statistics Versión 26.0.

10. RESULTADOS PRELIMINARES.

Se muestran patrones demográficos de los pacientes a analizar, los cuales destacan distribución por sexo masculino : femenino 3:3 (gráfico 1). En cuanto a la localización existe tendencia de presentación en el lóbulo frontal (gráfico 2), siendo el hemisferio cerebral izquierdo con mayor frecuencia de presentación (75%, gráfico 3).

La edad media de presentación es de 52.5 años de edad (+/- SD 13.21), una media de IMC 28.5 (+/-SD 9.52). La morbilidad más frecuente al momento asociado en los pacientes es la diabetes mellitus tipo 2 e hiperextensión arterial sistémica.

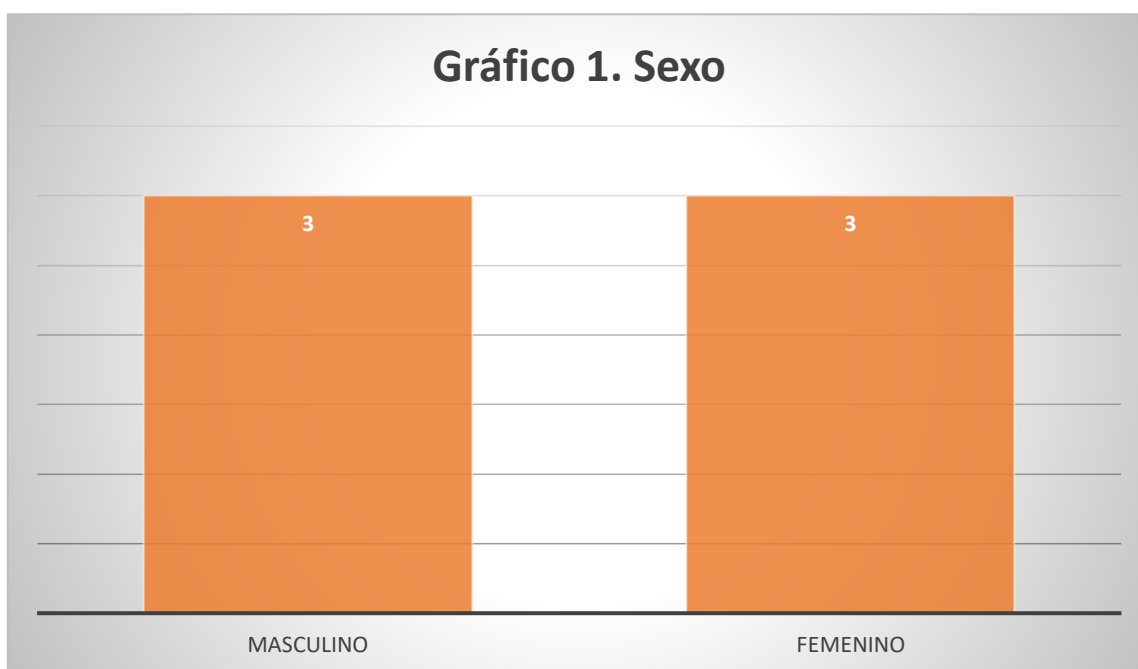


Gráfico 2. Localización

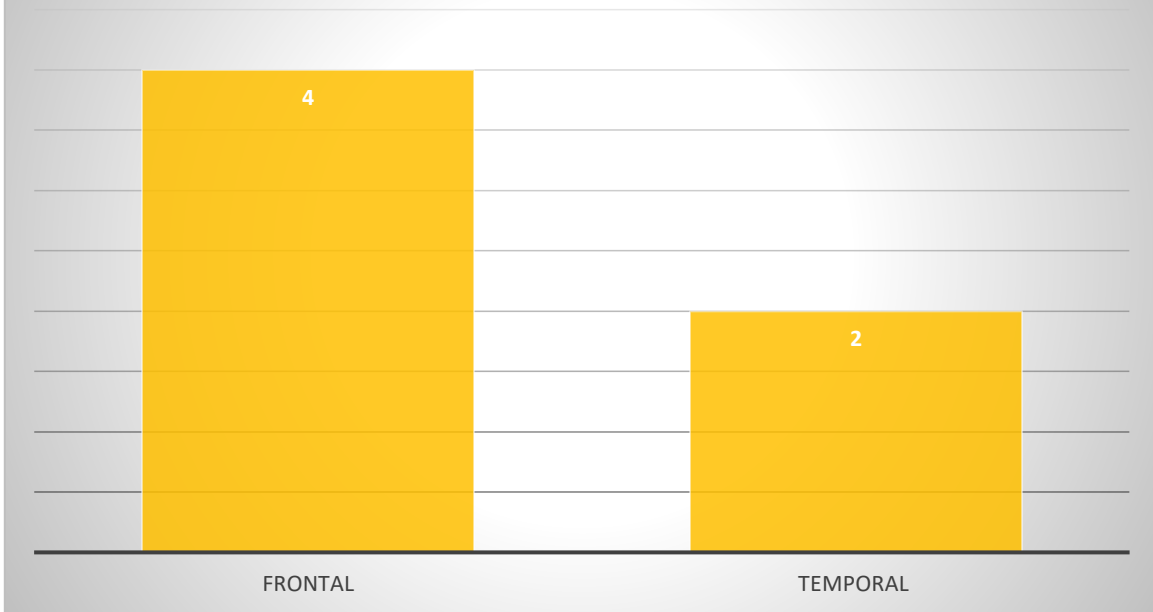


Gráfico 3. Hemisferio

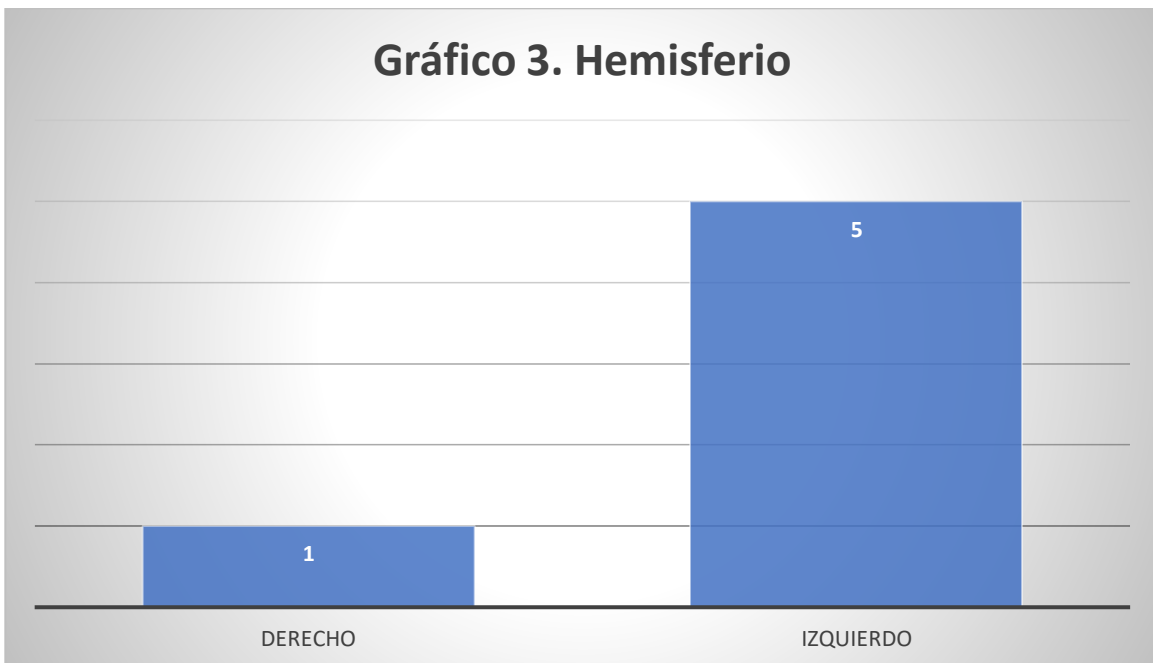


Tabla 1. Otras características generales	Valor
Masculino:Femenino	3:3
Edad [años (+/- SD)]	52.5 (+/-13.21)
IMC	28.5 (+/-9.52)

Cabe mencionar, que durante seguimiento fue necesario exclusión de pacientes por reporte histopatológico que no están en los criterios de selección establecidos inicialmente, así mismo, se excluyeron paciente con evento finado por deterioro neurológico, paciente reciben en tiempos valorables durante el postquirúrgico tratamiento adyuvante (60Gy/30 fracciones), el seguimiento por radioneurocirugía.

11. DISCUSIÓN.

Hasta el momento se han recabado muestras séricas en condiciones estériles almacenadas para su cuantificación. Las variables analizadas al momento deben interpretarse como resultados parciales que no reflejan el comportamiento general, pacientes han sido excluidos por evento finado, así mismo, confirmación histopatológica diferente a glioma de alto grado.

En el comportamiento parcial de las variables en los pacientes sospechosos se observa una media de edad al momento del diagnóstico de 502.5 años, en la literatura mundial series reportan mayor edad de presentación entre 75 y 84 años de edad. En concordancia con lo reportado en la literatura el lóbulo frontal es el sitio de mayor presentación, seguido de predominio por lóbulo temporal.

El seguimiento de grupo control se realizará en conjunto con laboratorio al contar con kits de cuantificación con la finalidad de conservar las muestras séricas en las adecuadas condiciones. Anteriormente hemos contemplado variables confusoras respecto al comportamiento del patrón de citocinas inflamatorias como: el consumo de medicamentos esteroideos, tiempo de al momento de consumo de los mismos, tipo de tratamiento adyuvante por quimioterapia, tiempo al momento de recibir radioterapia estereotáxica fraccionada y quimioterapia, así comorbilidades. Se han identificado diferencias propias del seguimiento administrativo en tiempo de estudio de imagen, inicio, duración de terapia adyuvante.

12. CONCLUSIONES.

En término de reporte preliminar, previamente se ha identificado una tendencia de presentación anatómica de lesiones por gliomas de alto grado concordante a la literatura.

Se han identificado factores confusores mismos que se han incluido durante la recabación de datos para el análisis factorial correspondiente en su momento, otros factores de seguimiento se han comenzado a incluir en cuanto a estudios de imagen y variedad de tratamiento adyuvante, sin embargo, existen diferencias en el tiempo de seguimiento para estudio de IRM, tratamiento adyuvante. Se espera continuar con recabación de datos y muestras, al contar con financiamiento se concluirán las determinaciones séricas y su relación con desenlace.

13. CONSIDERACIONES ÉTICAS.

El análisis de material biológico será anónimo y no podrá relacionarse con el nombre del paciente, se manejarán claves internas para manejar la información de los pacientes con lo que se garantiza la confidencialidad y el anonimato de cada paciente, los resultados obtenidos serán usados con la finalidad de un tratamiento adecuado de los pacientes además de la investigación.

14. *CONSIDERACIONES FINANCIERA.*

- Aporte Financiero: Se someterá el proyecto a convocatoria para el seguimiento del procesamiento de las muestras de laboratorio.
- Recursos con los que se cuenta:
 - Pacientes: pacientes con diagnóstico de glioma de alto grado que son tratados mediante cirugía resectiva y adyuvante radioneurocirugía (Departamento de Neurocirugía y Radiocirugía, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía MVS).
 - Resonador magnético para seguimiento de pacientes tratados (Departamento de Radiocirugía, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía MVS).
 - Personal de enfermería y de laboratorio capacitados para la toma de muestras séricas que rutinariamente se realizan en los pacientes.
 - Recursos de laboratorio.

15.1 Alcances.

RESULTADOS QUE SE ESPERAN OBTENER Y SU POSIBLE IMPACTO EN LA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA (CONTRIBUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN EN EL AVANCE DEL CONOCIMIENTO CIENTÍFICO.

Se proyectan resultados que permitan establecer diferencias respecto a los patrones bioquímicos de citocinas inflamatorias para progresión tumoral y para radionecrosis, se conoce que en estas formas de evolución existen unas series de modificaciones en el microambiente donde las citocinas inflamatorias son inexorables, este estudio permitirá conocer la naturaleza en los patrones de comportamiento de estas citocinas.

Determinar estas diferencias proporcionarán resultados donde el patrón bioquímico servirá de marcador diagnóstico que impactará en la toma de decisiones al determinar con mayor precisión entre este diagnóstico diferencial. Se proyecta así una alternativa ambulatoria y fácil de realizar que bien puede incluirse como parte de los estudios paraclínicos que rutinariamente se realizan en los pacientes tratados en el instituto y en quienes es determinante definir precozmente la variedad de evolución, progresión tumoral o radionecrosis.

La determinación de estas diferencias impactará en la toma de decisiones que son imperantes en la sobrevida de los pacientes durante su seguimiento.

SATISFACCIÓN DE UNA NECESIDAD DE SALUD CON EL DESARROLLO DE ESTE TRABAJO.

Se ha mencionado que el cáncer continúa siendo un problema de salud pública en México y en el mundo, constituyendo una de las primeras causas

de muerte. Los gliomas de alto grado son los tumores primarios más frecuentes que pesar del tratamiento estándar de primera línea suelen cursar con una evolución catastrófica y con recidiva tumoral. Es mandatorio el uso de recursos clínicos y paraclínicos que coadyuven a determinar con mayor precisión cuando se trate de progresión tumoral a diferencia de radionecrosis ya que la toma de decisiones puede impactar en la sobrevida y la calidad de vida de los pacientes.

15.2 CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

ANEXO 2. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Le invitamos a participar en este proyecto de investigación desarrollado por investigadores del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía y aprobado por los Comités en Materia de Investigación para la Salud incluyendo el Comité de Investigación y el Comité de Ética en Investigación.

Registro	Título
	Diferenciación entre tumor recurrente y radionecrosis por expresión seria de marcadores inflamatorios en pacientes con gliomas de alto grado.

Por favor, lea esta forma informativa con cuidado. Tómese el tiempo para hacer todas las preguntas que desee. El personal del estudio le explicará cualquier término o información que no comprenda con claridad.

El propósito de esta investigación es:

Este es un estudio acerca de la diferenciación entre actividad tumoral y cambios por radiación en pacientes con gliomas de alto grado previamente radiados. El propósito de este estudio es aprender cuál de los marcadores en sangre es el más útil para lograr esta diferenciación.

I. INTRODUCCIÓN

Un Comité de Ética en Investigación (CEI) y un Comité de Investigación (CI) con revisión independiente responsable por la conducta ética y los principios científicos en este centro de investigación han aprobado este estudio.

Usted está siendo invitado a participar en este estudio de investigación clínica donde se realizará un procedimiento de canalizar una vena en la mano, antebrazo o pie según sea el caso en cada paciente con la finalidad de extraer sangre del brazo (< 10 ml) con una jeringa y aguja (estériles) para la determinación de los marcadores séricos. Esta modalidad de diagnóstico está en investigación debido a que aún no se han determinado cuales son los parámetros óptimos de citocinas inflamatorias séricas para la diferenciación entre tumor recurrente y radionecrosis. Actualmente no se cuenta con estudios reportados de este análisis descriptivo.

Antes de decidir si usted desearía participar en este estudio, por favor, lea esta información cuidadosamente y discútalas con su médico y a cualquier persona que usted prefiera antes de aceptar participar. Esto explica el estudio y lo que se espera que usted haga durante el mismo.

La participación en este estudio es completamente voluntaria; usted no está obligado a formar parte de este. Su tratamiento y actitud de su doctor hacia usted no se verán afectados en el caso de decidir que no desea formar parte de este estudio. La negativa a participar no afectará cualquier beneficio para el cual usted de otra forma tenga derecho. Usted también podrá retirarse una vez enrolado durante el estudio si es que así lo desea, con las mismas implicaciones mencionadas previamente.

Se le está solicitando considerar su participación en este estudio por que ha sido diagnosticado con glioma de alto grado. Los efectos adversos reportados por la punción generalmente causa cierto dolor que dura menos de un minuto; ocasionalmente puede haber infección del sitio de la punción aunque esta complicación es muy poco probable. Existe la posibilidad de que aparezca un moretón en el sitio de punción. La sangre extraída se utilizará en el laboratorio para la determinación de cada

uno de los marcadores. En el proyecto actual se incluirán dos grupos de pacientes en estudio, un grupo de 15 pacientes sin diagnóstico de glioma de alto grado y otro grupo de 15 pacientes con diagnóstico confirmado de glioma de alto grado, los pacientes tratados con diagnóstico de glioma de alto grado continuarán recibiendo el tratamiento individualizado que le corresponda y este estudio no intervendrá en el tratamiento.

PARTICIPANTES

En este estudio sólo podrán participar los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión:

Diagnóstico histopatológicamente confirmado de glioma de alto grado.
Que hayan recibido radioterapia como tratamiento adyuvante.
Que acepten participar en el estudio mediante la firma del consentimiento informado.

En este estudio no podrán participar los pacientes que cumplan con los criterios de exclusión:

Que no acepten participar en el estudio.
Que presenten alguna comorbilidad (p.ej., infecciosa al momento de la toma de la muestra de sangre.
Abandono de seguimiento.

II. PROPÓSITO DEL ESTUDIO

Este es un estudio acerca de la diferenciación entre actividad tumoral y cambios por radiación en pacientes con gliomas de alto grado previamente radiados. El propósito de este estudio es aprender cuál de los marcadores en sangre es el más útil para lograr esta diferenciación, estableciendo los mejores parámetros de séricos para obtener resultados de diagnóstico oportuno y toma de decisiones en su tratamiento.

III. DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Aproximadamente 15 personas formaran parte de este estudio en el transcurso de 12 meses. Las personas seleccionadas deberán tener el diagnóstico de glioma de alto grado. Todos serán invitados a participar, se les realizarán los estudios de resonancia magnética nuclear con espectroscopía y con difusión y perfusión, estudio histopatológico después de resección quirúrgica. Con la finalidad de establecer el diagnóstico de glioma de alto grado. Una vez cubiertos los criterios de inclusión de este protocolo se programará el paciente continuará con su protocolo estándar de tratamiento para pacientes con este diagnóstico. Los pacientes después de someterse resección quirúrgica como parte del abordaje de lesiones que se sospecha de gliomas de alto grado serán dados de alta y se les evaluará a través de la consulta externa con citas para muestras séricas en el postquirúrgico a los 3, 6, 9, 12 meses, según sea el caso.

IV. DESCRIPCIÓN DE LOS PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO

Durante la primera visita se registrarán los datos clínicos, incluyendo la edad, género, condiciones médicas actuales, uso de medicamentos, confirmar el diagnóstico de glioma de alto grado previamente los pacientes con lesiones que son sometidos a criterio quirúrgico por sospecha de glioma de alto grado, habiéndose confirmado éste y cumpliendo criterios de selección.

Confirmado el diagnóstico de glioma de alto grado y recibido radioterapia como parte del tratamiento estándar se le interrogará nuevamente para verificar su participación en el estudio y se procederá a extracción de muestra sérica como parte y en conjunto de su rutina de laboratorio convencional.

Los procedimientos diagnósticos de resonancia magnética nuclear y estudio histopatológico son parte rutinaria de los procedimientos diagnósticos que se les realizan a las personas con sospecha de gliomas de alto grado.

Visitas subsecuentes:

Después de someterse a cirugía serán dados de alta y se les evaluará a través de la consulta externa con citas a los 3, 6, 9 y 12 meses.

Visitas adicionales

El paciente podrá obtener una cita extra con el investigador principal, para dudas relacionados con la determinación sérica.

V. COSTOS RELACIONADOS CON EL ESTUDIO

Este estudio no cuenta con financiamiento externo; sin embargo, los sujetos considerados a participar NO deberán de pagar el costo. Solo aquellos estudios que se consideren parte del abordaje o manejo rutinario de su enfermedad podrán ser pagados por usted.

Los costos asociados al diagnóstico, clasificación y seguimiento de los pacientes con gliomas de alto grado son considerados partes del procedimiento estándar para pacientes con este diagnóstico.

VI. RIESGOS O INCONVENIENCIAS RAZONABLES Y PREVISIBLES

La punción generalmente causa cierto dolor que dura menos de un minuto; ocasionalmente puede haber infección del sitio de la punción aunque esta complicación es muy poco probable. Existe la posibilidad de que aparezca un moretón en el sitio de punción. Algunos de estos síntomas y signos suelen remitir espontáneamente, pueden ser tratados sintomáticamente de acuerdo al caso.

VII. POSIBLES BENEFICIOS ESPERADOS

El principal beneficio de participar en este estudio es la aportación importante de poder determinar cuál de los estudios por separado o combinados es el mejor para lograr la diferenciación entre recurrencia tumoral (actividad tumoral) y radionecrosis, de esta manera eventualmente se podrán hacer estudios dirigidos sin tener que hacer el protocolo completo de estudios. El beneficio será para otros pacientes en otro momento.

VIII. EMBARAZO Y LACTANCIA, ANTICONCEPCIÓN.

No se incluirán a personas con embarazo o en lactancia. Las mujeres con potencial de embarazo deberán tener una prueba de embarazo negativa al ingresar al estudio. Si usted está o sospecha estar embarazada durante su participación en el estudio, contacte a su doctor del estudio inmediatamente.

IX. ALTERNATIVAS A LA PARTICIPACIÓN EN ESTE ESTUDIO

Este estudio no interviene en ninguna modalidad de tratamiento, por lo tanto, continuará con su tratamiento individualizado según corresponda.

X. PARTICIPACIÓN – RETIRO DEL ESTUDIO

Usted puede voluntariamente detener su participación en este estudio en cualquier momento. Si usted elige retirar su consentimiento, necesitará informar a su doctor del estudio inmediatamente. Usted puede discutir con su médico otras opciones de tratamiento.

Pueden existir circunstancias en las que su doctor la retirará del estudio, aunque usted no lo desee. Estas razones pueden incluir situaciones que pongan en peligro la vida, porque el protocolo termine prematuramente, o porque no asista a las visitas de seguimiento.

Con el objetivo de que continúe bajo supervisión en este estudio, usted debe aceptar estas evaluaciones y seguir las instrucciones de su doctor. Al no hacer esto, su doctor puede retirarlo del estudio debido a que la continuidad de su participación puede no ser lo más conveniente para usted. Si el médico del estudio no es su médico de cabecera, se recomienda que el médico del estudio informe a su médico personal sobre su participación en el estudio si usted así lo desea. Si usted tiene alguna preocupación sobre esto, por favor platíquelo con el personal del estudio.

SU tratamiento y la actitud del neurólogo hacia usted no se verán afectadas de ninguna manera en caso de que usted decida no formar parte del estudio. La negativa a participar no afectará cualquier beneficio para el cual usted de otra forma tenga derecho.

Puede solicitar la corrección de sus datos o que sus datos se eliminen de nuestras bases o retirar su consentimiento para su uso. En cualquiera de estos casos le pedimos dirigirse a la siguiente dirección de correo smoreno@innn.edu.mx u ocanela@innn.edu.mx.

XI. RESPONSABILIDADES DEL PACIENTE

Mientras está involucrado en este estudio, usted deberá acudir a las consultas de seguimiento y a realizarse las valoraciones planeadas para el mismo. Para cualquier enfermedad o lesión, usted deberá contactar al investigador inmediatamente o en cualquier situación de emergencia buscar el cuidado apropiado.

XII. COMPENSACIONES POR LESIÓN

No se le cobrará por ninguna evaluación extra por parte del investigador principal relacionada con el proyecto de investigación. No habrá costos adicionales para usted por su participación en este estudio. Se le proporcionará tratamiento médico por cualquier lesión física que usted sufra y que se encuentre relacionado con la investigación, de acuerdo con los recursos del instituto y la red de salud de la Secretaría de Salud.

El término “lesión directamente relacionada con la investigación” quiere decir que su lesión física fue causada directamente por los procedimientos realizados apropiadamente, requeridos por el estudio que sean diferentes del procedimiento del quirúrgico estándar que usted hubiera recibido si no hubiera participado en el estudio.

En el caso de lesión directamente relacionada con la investigación, el tratamiento médico necesario, dentro de los estándares de tratamiento establecidos, será proporcionado para ayudarlo en la recuperación de dicho daño. El tratamiento por daños relacionados con la investigación puede incluir pruebas de laboratorio, rayos X, y otros procedimientos utilizados en el diagnóstico y tratamiento. Esto a través de los recursos del instituto y la red de salud de la SSA. Ninguna otra compensación será cubierta. Usted debe notificar al médico del estudio inmediatamente, de cualquier lesión relacionada con la investigación. El médico notificara a la Dirección de Investigación del instituto de esta situación. Este protocolo no cuenta con financiamiento económico.

XIII. CONFIDENCIALIDAD

Los datos de su participación permanecerán con carácter estrictamente confidencial en el centro de investigación. Sin embargo, serán examinados por todas las personas relacionadas con el protocolo de investigación y/o quienes sean nombradas para su análisis, incluyendo a los representantes de las autoridades de salud de México y otras agencias reguladoras con propósitos de inspección.

Toda la información obtenida será estrictamente confidencial y no se revelará ninguna información que pueda identificarlo. Su nombre o alguna identificación de su persona no serán usados en ninguno de los estudios. Por ningún motivo identificaremos tu nombre en ningún material.

En este estudio se han adoptado todas las medidas necesarias para proteger la privacidad e intimidad del paciente. También se utilizará una plataforma en línea segura y confidencial, que permitirá coleccionar de forma de-identificada.

Si se publica la información obtenida de este estudio, el reporte será redactado de modo tal que nadie pueda identificar sus datos personales e identidad, salvo que dicha información sea requerida oficialmente por alguna autoridad mexicana o del extranjero.

XIV. INFORMACIÓN DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL

Si usted tiene alguna pregunta acerca de esta información u otra relacionada con el proyecto de investigación favor de contactar al investigador principal: Dr. Sergio Moreno Jiménez, en los teléfonos: 56063822 Ext: 1026, Email: smoreno@innn.edu.mx.

Si desea más información respecto a sus derechos como participante de este estudio, o discutir posibles lesiones como consecuencia de este estudio, puede comunicarse con o si tiene preguntas sobre sus derechos como participante contacte al Presidente del Comité de Ética del INNN el Dr. Pablo León Ortiz (comite.etica@innn.edu.mx) o al teléfono 56063822 Ext. 5027 o 1080.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

He leído y comprendido la información proporcionada para el paciente sobre el presente estudio, en particular las secciones que describen el propósito, descripción y procedimientos del estudio, los riesgos y beneficios previstos que van a utilizarse sobre las cuales he tenido de hacer preguntas y he comprendido todas las respuestas. Otorgo mi consentimiento de manera libre y voluntaria para participar en el estudio de "Diferenciación entre tumor recurrente y radionecrosis por expresión seria de marcadores inflamatorios en pacientes con gliomas de alto grado". Estoy enterado de que puedo retirarme del estudio en cualquier momento sin que se me someta a ningún tipo de penalización. Los datos de mi participación permanecerán con carácter estrictamente confidencial en el centro de investigación. Sin embargo, estoy de acuerdo en que sean examinados y utilizados por todas las personas relacionadas con el proyecto de investigación, incluyendo las agencias reguladoras, incluso si abandono o me retiro anticipadamente del estudio. Si se publica la información obtenida de este estudio, el reporte será redactado de modo tal que nadie pueda identificar mis datos personales e identidad.

- He leído este formulario y se me ha explicado el estudio de investigación.
- Se me ha dado la oportunidad de hacer preguntas, y mis preguntas fueron respondidas.
- Se me ha informado a quién debo llamar si tengo más preguntas.
- Acepto participar en el estudio de investigación descrito arriba.
- Recibiré una copia de este formulario después de firmarlo.

No firme este formato a menos que usted haya tenido la oportunidad de hacer preguntas y de que haya obtenido respuestas satisfactorias a todas sus preguntas.

¿Acepta los términos anteriores?

Estoy de acuerdo _____ No estoy de acuerdo _____

¿Acepta que tus datos personales sean tratados como se describió anteriormente?

Estoy de acuerdo_____ No estoy de acuerdo _____

Nombre del sujeto

Firma

Fecha y Hora

Nombre del Representante Legal

Firma

Fecha y Hora

**Nombre del quien obtuvo el
Consentimiento Informado**

Firma

Fecha y Hora

15.3 DEFINICIÓN DE VARIABLES.

TABLA 1. DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES.

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	UNIDAD DE MEDICIÓN
Niveles séricos de TNF-alfa	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numérica Continua
Niveles séricos de FTC-β	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numérica Continua
Niveles séricos de IL-1beta	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numérica Continua
Niveles séricos de IL-4	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numérica Continua
Niveles séricos de IL-6	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numérica Continua
Niveles séricos de IL-7	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numérica Continua
Niveles séricos de IL-8	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numérica Continua
Niveles séricos de IL-10	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numérica Continua
Niveles séricos de IL-12	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numérica Continua
Niveles séricos de IL-13	Niveles séricos en nanogramos/mililitro	Polipéptido responsable de regular la función de las células.	Numérica Continua

<p>Tipo de Paciente</p>	<p>Recurrencia tumoral.</p> <p>Radionecrosis.</p>	<p>Recurrencia: Sobrevida menor a la mediana.</p> <p>Proliferación vascular y angiogénesis, sin obliteración de los lúmenes vasculares.</p> <p>Radionecrosis: Sobrevida mayor a la mediana.</p> <p>Vasculopatía oclusiva que se puede manifestar clínicamente como un síndrome neurovascular agudo. Histopatológicamente se caracteriza por necrosis fibrinoide de capilares, engrosamiento endotelial, hialinización y trombosis vascular, que ocurre habitualmente después de 3 meses desde el tratamiento con quimio-radioterapia.</p>	<p>Nominal Dicotómica</p>
--------------------------------	---	---	---------------------------

Variables confusoras

Sexo	Femenino. Masculino.	Condición orgánica, masculina o femenina, de los animales y las plantas.	Nominal Dicotómica
Comorbilidad	Enfermedades crónicas degenerativas. Enfermedades autoinmunes	Coexistencia de dos o más enfermedades en un mismo individuo.	Nominal Politémica
Edad	Años cumplidos al momento del diagnóstico o inicio del estudio (controles)	Tiempo que ha vivido una persona.	Númerica Discreta
Índice de Masa Corporal	Calculado al momento de la toma de la muestra.	IMC= peso en kg/ altura en metro al cuadrado	Númerica Continua

16. BIBLIOGRAFÍA.

1. Deorah S, Lynch CF, Sibenaller ZA y Ryken TC. Trends in brain cancer incidence and survival in the United States: Surveillance, Epidemiology, and End Results Program, 1973 to 2001. *Neurosurg Focus* 20(4): E1, 2006.
2. Chakrabarti I, Cockburn M, Cozen W, Wang YP y Preston-Martin S. A Population-based description of glioblastoma multiforme in Los Angeles County, 1974-1999. *Cancer* 2005; 14(12):2798-2806.
3. Mendoza A, Cabaalé M y Fernández ME. Comportamiento Anatomopatológico de los Tumores Cerebrales en el Hospital General "Lucía Miguélez". Año 2003. *Correo Científico Médico de Holguín* 2004; 8(3):1-6.
4. Wrensch M, Minn Y, Chef T, Bondy M y Berger MS. Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature. *Neuro-oncol* 2002; 4(4):278-299.
5. Cuevas-Urióstegui ML, Villasís-Keever MA y Fajardo-Gutiérrez A. Epidemiología del cáncer en adolescentes. *Salud Publica Mex* 2003; 45 (suppl 1):S115-S123.
6. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2007;114(2):97-109.
7. Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, Di Patre PL, Burkhard C, Schuler D, Probst-Hensch NM, Maiorka PC, Baeza N, PisanP, Yonekawa Y, Yasargil MG, Lutolf UM y Kleihues P. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res* 2004; 64(19):6892-9.

8. Wrensch M, Fisher JL, Schwartzbaum JA, Bondy M, Berger M y Aldape KD. The molecular epidemiology of gliomas in adults. *Neurosurg Focus* 2005; 19(5): E5.
9. Ohgaki H y Kleihues P. Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol (Berl)* 2005; 109(1):93-108.
10. Schwartzbaum JA, Fisher JL, Aldape KD y Wrensch M. Epidemiology and molecular pathology of glioma. *Nat Clin Pract Neurol* 2006; 2(9): 494-503.
11. Wara WM. Radiation therapy for brain tumors. *Cancer* 1985; 55:2291-8.
12. Kowalczyk A, McDonald RL, Amidel CH, Dohrmann III G, Ericsson RK, Hekmatpanah J, y cols. Quantitative imaging study of extent of surgical resection and prognosis of malignant astrocytomas. *Neurosurgery* 1997; 41:1028-38.
13. Pérez Ortiz L, Rodríguez Ramos E, Figueredo Rodríguez R, Barroso García E. Astrocitoma anaplásico y glioblastoma multiforme. Factores que influyen en la supervivencia. *Rev Cubana Cir* 2001; 40(2):87-91.
14. Muñoz Carmona DM, Faga Cantamessa C, Márquez García-Salazar M, Gómez Millán J y Bayo E. Nuevas perspectivas en el tratamiento paliativo de glioblastoma multiforme y astrocitoma anaplásico recidivado conimplantes de carmustina. *Oncología* 2005; 28(5): 249-257.
15. Frankel SA, German WJ. Glioblastoma multiforme; review of 219 cases with regard to natural history, pathology, diagnostic methods, and treatment. *J Neurosurg* 1958;15(5):489-503.

16. Rock K, McArdle O, Forde P, et al. A clinical review of treatment outcomes in glioblastoma multiforme-the validation in a non-trial population of the results of a randomised Phase III clinical trial: has a more radical approach improved survival? *Br J Radiol.* 2012;85(1017):e729-e733.
17. Omuro A, DeAngelis L. Glioblastoma and other malignant gliomas. A clinical review. *JAMA* 2013;310(17):1842-1850. 4.
18. Hou LC, Veeravagu A, Hsu AR y Tse VCK. Recurrent glioblastoma multiforme: a review of natural history and management options. *Neurosurg Focus* 2006; 20(4):E3.
19. Sheline GE. Radiation therapy of brain tumors. *Cancer* 1977; 39:873- 881.
20. Walter MD, Green SB, Byar DP, y cols. Randomized comparisons of radiotherapy and nitrosoureas for the treatment of malignant glioma after surgery. *N Engl J Med* 1980; 303:1323-1329.
21. Walter MD, Alexander E, Hunt WE, y cols. Evaluation of BCNU and/or radiotherapy in the treatment of anaplastia gliomas 1988; 6:201-206.
22. Marks JE, Baglan RJ, Para Sad SC, Blank WF. Cerebral radionecrosis: incidente and risk in relation to dose, time, fractionation and volume. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1981; 7:243-252.
23. Shapiro WR. Treatment of neuroectodermal brain tumors. *Ann Neurol* 1982; 12:231-237.
24. Halperin EC, Burger PC. Convencional external beam radiotherapy for central nervous system malignancies. *Neurol Clin* 1985; 3:867-882.

25. Imperato JP, Paleologos NA y Vick NA. Effect of Treatment on Long- Term Survivors with Malignant Astrocytomas. *Ann Neurol* 1990; 28:818-822.
26. Szeifert GT, Masanger N, Brotchi J, Levivier M. Morphological redifferentiation in a malignant astrocytic tumor after gamma knife radiosurgery. *J Neurosurg* 2002; 97:627-630.
27. Pennybacker J y Russell DS. Necrosis of the brain due to radiation therapy. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 1948; 11:183-198.
28. Russell DS, Wilson CW, y Tansley K. Experimental Radionecrosis of the brain in rabbits. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 1949; 12:187-195.
29. Crompton MR y Layton DD. Delayed Radio Necrosis of the Brain Following Therapeutic X-radiation of the Pituitary. *Brain* 1961; 84:85- 101.
30. Ghatak NR y White BE. Delayed Radiation Necrosis of the Hypothalamus: Report of a Case Simulating Recurrent Craniopharyngioma. *Arch Neurol* 1969; 21:425-430.
31. Eyster EF, Nielsen SL, Sheline GE y Wilson CB. Cerebral radiation necrosis simulating a brain tumor. *J Neurosurg* 1974; 39:267-271.
32. Doms GC, Hecht S, Brant-Zawadzki M, Berthiaume Y, Norman D, Newton TH. Brain radiations lesions: MR imaging. *Radiology* 1986; 58:149-155.
33. Chiang CS, McBride WH, Withers HR. Radiation-induced astrocytic and microglial responses in mouse brain. *Radiother Oncol* 1993; 29:60-68.
34. Pierre G y Mark G. Brain Radiation Necrosis. *Neurologist* 2003; 9(4): 180-188.

35. Marks JE, Baglan RJ, Prasad SC y Blank WF. Cerebral radionecrosis: incidence and risk in relation to dose, time, fractionation and volume. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1981; 7:243-252.
36. Kumar AJ, Leeds NE, Fuller GN, Van Tassel P, Maor MH, Sawaya RE y Levin VA. Malignant Gliomas: MR Imaging Spectrum of Radiation Therapy- and Chemotherapy-induced Necrosis of the Brain after Treatment. *Radiology* 2000; 217:377-384.
37. Husain MM, Garcia JH. Cerebral "radiation necrosis": vascular and glial features. *Acta Neuropathologica* 1976; 36:381-385.
38. Levin VA, Edwards MS y Byrd A. Quantitative observations of the acute effects of X-irradiation on brain capillary permeability: part I. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1979; 5:1627-1631.
39. Edwards MS, Levin VA y Byrd A. Quantitative observations of the subacute effects of x-irradiation on brain capillary permeability: part II. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1979; 5:1633-1635.
40. Burger PC y Boyko OB. The pathology of central nervous system radiation injury. En Gutin PH, Leible SA, Sheline GE, eds. *Radiation injury to the nervous system*. New York: Raven, 1991; 191-208.
41. Castel JC y Caille JM. Imaging of irradiated brain tumours: value of magnetic resonance imaging. *J Neuroradiol* 1989; 16:81-132.
42. Di Chiro G, Oldfield E, Wright DC y cols. Cerebral necrosis after radiotherapy and/or intraarterial chemotherapy for brain tumors: PET and neuropathologic studies. *AJR Am J Roentgenol* 1988; 150:189-197.

43. Sawaya R. The fibrinolytic enzymes in the biology of brain tumors. En Sawaya MD, ed. Fibrinolysis and the central nervous system. Philadelphia, Pa: Hanley & Belfus, 1990; 106-126.
44. Fahey FH. Instrumentation in positron emission tomography. Neuroimag Clin N Am 2003; 13:659-669.
45. Mason NS, Mathis CA. Positron emission tomography radiochemistry. Neuroimag Clin N Am 2003; 13:671-687.
46. Derlon JM, Petit-Taboue MC, Chapon F, Beaudouin V, Noel MH, Creveuil C, et al. The in vivo metabolic pattern of low-grade brain gliomas: a positron emission tomographic study using 18F-fluorodeoxyglucose and 11C-L-methionine. Neurosurgery 1997; 40:276-88.
47. Chung JK, Kim YK, Kim SK, Lee YJ, Paek S, Yeo JS, et al. Usefulness of 11C-methionine PET in the evaluation of brain lesions that are hypo- or isometabolic on 18F-FDG PET. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2002; 29:176-182.
48. Tsuyuguchi N, Takami T, Sunada I, Iwai Y, Yamanaka K, Tanaka K, Nishikawa M, Ohata K, Torii K, Morino M, Nishio A, Hara M. Methionine positron emission tomography for differentiation of recurrent brain tumor and radiation necrosis stereotactic radiosurgery. In Malignant Glioma. Annals of Nuclear Medicine 2004; 18:291-29.
49. Patronas NJ, Di Chiro G, Brooks RA, DeLaPaz RL, Kornblith PL, SNT BH, Rizzoli HV, Kessler RM, Manning RG, Channing M, Wolf AP, O'Conno CM. Work in Progress: [18F] Fluorodeoxyglucose and Positron Emission

- Tomography in the Evaluation of radiation Necrosis of the Brain. *Radiology* 1982; 144:885-889.
50. Valk PE, Budinger TF, Levin VA, Silver P, Gutin PH, Doyle WK. PET of malignant cerebral tumors alter interstitial brachytherapy. *J Neurosurg* 1988; 69:830-838.
51. Ricci PE, Karis JP, Heiserman JE, Fram EK, Bice AN, Drayer BP. Differentiating Recurrent Tumor from Radiation Necrosis: Time for Re-evaluation of Positron Emission Tomography. *AJNR Am J Neuroradiol* 1998; 19:407-413.
52. Thompson TP, Lunsford LD, Kondziolka D. Distinguishing Recurrent Tumor and Radiation Necrosis with Positron Emission Tomography versus Stereotactic Biopsy. *Stereotact Funct Neurosurg* 1999; 73:9-14.
53. Lilja A, Lundqvist H, Olson Y, Spannare B, Gullberg P, Langstrom B. Positron emission tomography and computed tomography in differential diagnosis between recurrent or residual glioma and treatment-induced brain lesions. *Acts Radiol* 1989; 30:121-128.
54. Ogawa T, Kanno I, Shishido F, Inugami A, Higano S, Fujita H, et al. Clinical value of PET with 18F-fluorodeoxyglucose and L-methyl-11C-methionine for diagnosis of recurrent brain tumor and radiation injury. *Acta Radiol* 1991; 32:197-202.
55. Dethy S, Goldman S, Bleicic S, Luxen A, Levivier M, Hildebrand J. Carbon-11-methionine and fluorine-18-FDG PET study in brain hematoma. *J Nucl Med* 1994; 35:1162-1166.

56. Ogawa T, Hatazawa J, Inugami A, Murakami M, Fujita H, Shimosegawa E, et al. Carbon-11-methionine PET evaluation of intracerebral hematoma: distinguishing neoplastic from non-neoplastic hematoma. *J Nucl Med* 1995; 36:2175-2179.
57. Ogawa T, Inugami A, Hatazawa J, Kanno I, Murakami M, Yasui N, et al. Clinical positron emission tomography for brain tumor: comparison of fludeoxyglucose F 18 and L-methyl-11C-methionine. *Am J Neuroradiol* 1995; 17:345-353.
58. Sonoda Y, Kumabe T, Takahashi T, Shirane R, Yoshimoto T. Clinical usefulness of 11C-MET PET and 201TI SPECT for differentiation of recurrent glioma from radiation necrosis. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 1998;38:342- 347.
59. De Witte O, Goldberg I, Wikler D, Rorive S, Damhaut P, Monclus M, et al. Positron emission tomography with injection of methionine as a prognostic factor in glioma. *J Neurosurgery* 2001; 95:746-750.
60. Tsuyuguchi N, Sunada I, Iwai Y, Yamanaka K, Tanaka K, Takami T, et al. Methionine positron emission tomography of recurrent metastatic brain tumor and radiation necrosis after stereotactic radiosurgery: is a differential diagnosis possible? *J Neurosurg* 2003; 98:1056-1064.
61. Chao ST, Suh JH, Raja S, Lee SY, Barnett G. The Sensitivity and Specificity of FDG PET in Distinguishing Recurrent Brain Tumor from Radionecrosis in Patients Treated with Stereotactic Radiosurgery. *Int J Cancer* 2001; 96:191-197.

62. Bruhn H, Frahm J, Gyngell ML, et al. Noninvasive differentiation of tumors with use of localized H-1 MR spectroscopy in vivo: Initial experience in patients with cerebral tumors. *Radiology* 1989; 172:541-548.
63. Luyten PR, Marien AJH, Heindel W, et al. Metabolic imaging of patients with intracranial tumors: H-1 MR spectroscopic imaging and PET. *Radiology* 1990; 176: 791-799.
64. Gill SS, Thomas DG, Van Bruggen N, et al. Proton MR spectroscopy of intracranial tumors: in vivo and in vitro studies. *J Comput Assist Tomogr* 1990; 14:497-504.
65. Sappey-Marinié D, Calabrese G, Hetherington HP, et al. Proton magnetic resonance spectroscopy of human brain: applications to normal white matter, chronic infarction, and white matter signal hyperintensities. *Magn Reson Med* 1992; 26:313-317.
66. Fulham MJ, Bizzi A, Dietz MJ, et al. Mapping of brain tumor metabolites with proton MR spectroscopy imaging, clinical relevance. *Radiology* 1992; 185:675-686.
67. Castillo M, Lester Kwok and Suresh K. Clinical Applications of Proton MR spectroscopy. *AJNR Am J Neuroradiol* 1996; 17:1-15.
68. Hyun Kim S, Chang KH, Hee M, Sik H, Chung M, et al. Brain abscess and brain tumor: discrimination with in vivo H-1 MR spectroscopy, *Radiology* 1997; 204:239-245.
69. Glickson JD. Clinical NMR spectroscopy of tumors. Current status and future directions. *Invest Radiol* 1989; 24:1011-1016.

70. McBride DQ, Miller BL, Nikas DL, et al. Analysis of brain tumors using proton magnetic resonance spectroscopy. *Surg Neurol* 1995; 44: 137-144.
71. Castillo M, Kwok L, Kim M. Proton M Spectroscopy of the brain. *Neuroimaging Clinics of North America*. Noviembre 1998.
72. Andrew J, Scott D, Robert W, et al. Focal brain lesions: Effect of Single-voxel proton MR spectroscopic findings on treatment decisions. *Radiology* 1998; 209:73-78.
73. Meng L, Soonmee C, Edmond A, Kopp, et al. High-grade gliomas and solitary metastases: differentiation by using perfusion and Proton Spectroscopic MR imaging. *Radiology* 2002; 222:715-721.
74. Ping H, Jih T, Wei L, Shu S, et al. Brain abscess and necrotic brain tumor: Discrimination with proton MR spectroscopy and diffusion-weighted imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2002; 23:1369-1377.
75. Lin A, Bluml S, Mamelak AN. Efficacy of proton magnetic resonance spectroscopy in clinical decision making for patients with suspected malignant brain tumors. *J Neurooncol* 1999; 45:69-76.
76. Wald LL, Nelson SJ, Day MR, Noworolski SE, Henry RG, Huhn SL, Chang S, Prados MD, Sneed PK, Larson DA, Wara WM, McDermott M, Dillon WP, Gutin PH, Vigneron DB. Serial proton magnetic resonance spectroscopy imaging of glioblastoma multiforme after brachytherapy. *J Neurosurg* 1997; 87:525-534.
77. Dowling C, Bollen AW, Noworolski SM, McDermott MW, Barbaro NM, Day MR, Henry RG, Chang SM, Dillon WP, Nelson SJ, Vigneron DB. Preoperative Proton MR Spectroscopic Imaging of Brain Tumors: Correlation with

- Histopathologic Análisis of Resection Specimens. AJNR Am J Neuroradiol 2001; 22:604-612.
78. Holodny AI, Ollenschlager M. Difusión Imaging In Brain Tumors. Neuroimag Clin N Am 2002; 12:107-124.
79. Suguhara T, Korogi Y, Tomiguchi S, Shigematsu Y, Ikushima I, Kira T, Liang L, Ushio Y y Takahashi M. Posttherapeutic Intraaxial Brain Tumor: The Value of Perfusion-sensitive Contrast-enhanced MR Imaging for Differentiation Tumor Recurrence from Nonneoplastic Contrast-enhancing Tissue. AJNR Am J Neuroradiol 2000; 21:901-909.
80. Krabbe K, Gideon P, Wagn P, et al. MR diffusion imaging of human intracranial tumors. Neuroradiology 1997; 39:483-489.
81. Kim YJ, Chang KH, Son IC, et al. Brain abscess and necrotic or cystic brain tumor: discrimination with signal intensity on diffusion-weighted MR imaging. AJR 1998; 171:1478-1490.
82. Hein PA, Eskey CJ, Duna JF y Hug EB. Difusión-Weighted Imaging in the Follow-up of Treatde High-Grade Gliomas: Tumor Recurrence versus Radiation Injury. AJNR Am J Neuroradiol 2004; 25:201-209.
83. Chan Y, Yeung DK, Leung S, Chan P. Difusión-Weighted Magnetic Resonante Imaging in Radiation-Induced Cerebral Necrosis: apparent Difussion Coefficient in Lesion Components. J Comput Assist Tomogr 2003; 27:674-680.
84. Moncada S, Higgs A. The l-arginine-nitric oxide pathway. N Engl J Med 1993; 329: 2002-2012.

85. Anggard, E. Nitric oxide: mediator, murderer, and medicine. *Lancet* 1994, 343: 1199-206.
86. Morikawa E, Moskowitz MA, Huang Z, Yoshida T, Irikura K, Dalkara T. L-arginine infusion promotes nitric oxide dependent vasodilatation, increases regional cerebral blood flow, and reduces infarction volume in the rat. *Stroke* 1994; 25 (2): 429-35.
87. Gally JA, Montague P, Reeke GN, Edelman GM. The NO hypothesis: Possible effects of a short-lived, rapidly diffusible signal in the development and function of the nervous system. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87:3547-3551.
88. Iadecola C, Pelligrino DA, Moskowitz MA, Lassen NA. Nitric oxide synthase inhibition and cerebrovascular regulation. *J Cereb Blood Flow Metab* 1994; 14: 175-192.
89. Pérez-Neri I, Castro E, Montes S, Boll MC, Bargés-Coll J, Soto-Hernández JL, Ríos C. Arginine, citrulline and nitrate concentrations in the cerebrospinal fluid from acute hydrocephalus patients. *J Chromatogr B* 2006; en prensa.
90. Farrel AJ, Blake DR, Palmer RMJ, Moncada S. Increased concentration of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases. *Annu Rheum Dis* 1992; 51: 1219-1222.
91. Milstein S, Sakai N, Brew BJ, Krieger C, Vickers JH, Saito K, Heyes MP. Cerebrospinal fluid nitrite/nitrate levels in neurologic disease. *J Neurochem* 1994; 63: 1178-1180.

92. Ikeda M, Sato I, Yuasa T, Miyatake T, Murota S. Nitrite, nitrate and GMPc in the cerebrospinal fluid in degenerative neurologic diseases. *J Neural Transm (Gen Sect)* 100: 263-267.
93. Zecca L, Rosati M, Renella R, Galimberti M, Ambrosini A, Fariello RG. Nitrite and nitrate levels in cerebrospinal fluid of normal subjects. *Journal of Neural Transmission* 1998; 105: 627-633.
94. H. E. Barksby, S. R. Lea, P. M. Preshaw and J. J. Taylor The expanding family of interleukin-1 cytokines and their role in destructive inflammatory disorders. 2007 British Society for Immunology, *Clinical and Experimental Immunology*, 149: 217–225.
95. Charles A. Dinarello. Blocking IL-1 in systemic inflammation. *JEM The Rockefeller University* Vol. 201, No. 9, May 2, 2005 1355–1359.
96. Chakrabarti I, Cockburn M, Cozen W, Wang YP y Preston-Martin S. A Population-based description of glioblastoma multiforme in Los Angeles County, 1974-1999. *Cancer* 2005; 14(12):2798-2806.
97. Mendoza A, Cabaalé M y Fernández ME. Comportamiento Anatomopatológico de los Tumores Cerebrales en el Hospital General “Lucía Ugué”. *Año 2003 Correo Científico Médico de Holguín* 2004; 8(3):1-6.
98. El Menyawi I, Looareesuwan S, Knapp S, Thalhammer F, Stoiser B, Burgmann H. Measurement of serum nitrite/nitrate concentrations using high-performance liquid chromatography. *Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1998; 706:347-35

99. S. Lacerda, M. Law. Magnetic resonance perfusion and permeability imaging in brain tumors *Neuroimaging Clinics of North America*, 19 (4) (2009), pp. 527-557
100. Patrick Y. Wen, David R. Macdonald, David A. Reardon, et al. Updated Response Assessment Criteria for High-Grade Gliomas: Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group. *J Clin Oncol* 28:1963-1972.
101. Dolores Hambardzumyan, David H Gutman. The role of microglia and macrophages in glioma maintenance and progression. *Nat Neurosci*. 2016 January; 19 (1): 20-27
102. Bozena Kaminska B, Cyranowski S. Recent advances in Understanding mechanisms of TGF Beta signaling and its role in glioma pathogenesis. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1202:179-201.
103. Zihao Zhang, et al. Interleukin 10 promotes growth and invasion of glioma cells by up-regulating KPNA 2 in vitro. *J Cancer Res Ther*. 2019; 15(4):9.