



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
"DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"

***ASOCIACIÓN DE LA SOBREENPRESIÓN DE FOXM1*3 CON EL GRADO DE
MALIGNIDAD EN LOS ASTROCITOMAS DIFUSOS DE TIPO ADULTO***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

NEUROCIROGÍA

PRESENTA:

DRA. ISAURA ZOÉ CHÁVEZ VALDERRAMA

ASESOR

DRA. IRIS ANGÉLICA FERIA ROMERO

INVESTIGADOR TITULAR ADSCRITO A LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN MÉDICA
EN ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS



Ciudad Universitaria, CD. MX.

Mayo 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

IDENTIFICACION DE LOS INVESTIGADORES

TESISTA: DRA. ISAURA ZOÉ CHÁVEZ VALDERRAMA

Médico Residente de 6 año Neurocirugía.

Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI

Teléfono: 5531679742

Contacto: zoechavez04@gmail.com

TUTOR PRINCIPAL: DRA. IRIS ANGÉLICA FERIA ROMERO

Investigador titular

Instituto Mexicano del Seguro Social

Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Neurológicas

Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI

Teléfono: 56276900 Ext.

Contacto: irisferi@yahoo.com.mx

INVESTIGADORES ASOCIADOS

DRA. BÁRBARA NETTEL RUEDA

Médico adscrito al servicio de Neurocirugía

Instituto Mexicano del Seguro Social

Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI

Teléfono: 5532249135

Contacto: b_netstel@hotmail.com



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud **3601**.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES Dr. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

Registro COFEPRIS **17 CI 09 015 034**
Registro CONBIOÉTICA **CONBIOETICA 09 CEI 023 2017082**

FECHA **Martes, 04 de julio de 2023**

Doctor (a) Iris Angélica Feria Romero

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título **Asociación de la sobreexpresión de FOXM1*3 con el grado de malignidad en los astrocitomas difusos de tipo adulto** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **APROBADO**:

Número de Registro Institucional

R-2023-3601-174

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

Maestro (a) GUADALUPE VARGAS ORTEGA

Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3601

Imprimir

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

ÍNDICE

RESUMEN	5
MARCO TEÓRICO	7
JUSTIFICACIÓN	14
PLANETAMIENTO DEL PROBLEMA	14
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	15
OBJETIVO GENERAL	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
HIPÓTESIS	15
MATERIAL, PACIENTES Y MÉTODOS	15
DISEÑO DE ESTUDIO	15
UNIVERSO DE TRABAJO	16
MUESTREO Y TAMAÑO DE MUESTRA	16
CRITERIOS DE SELECCIÓN	16
DESCRIPCION DE LAS VARIABLES	17
PLAN DE RECOLECCION DE INFORMACIÓN	18
FACTIBILIDAD DEL ESTUDIO	18
ASPECTOS ÉTICOS	19
RECURSOS HUMANOS, FÍSICOS Y FINANCIEROS	22
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	23
RESULTADOS	23
DISCUSIÓN	27
CONCLUSIONES	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

RESUMEN

TÍTULO: ASOCIACIÓN DE LA SOBREEXPRESIÓN DE FOXM1*3 CON EL GRADO DE MALIGNIDAD EN LOS ASTROCITOMAS DIFUSOS DE TIPO ADULTO

ANTECEDENTES: Según la clasificación de tumores del sistema nervioso central (OMS CNS5) de 2021, los gliomas difusos de tipo adulto (ATDG) son un grupo de neoplasias malignas compuesto por tres tipos diferentes de tumores: a) Astrocitomas, IDH-mutante, grados 2 a 4; b) Oligodendroglioma, IDH-mutante y codeleciónado 1p/19q, grados 2 y 3; y c) Glioblastoma IDH-wildtype grado 4. Aunque cada tipo de tumor tiene un perfil genético/molecular alterado, el grado de malignidad no puede definirse por las alteraciones genéticas propuestas. Por lo tanto, los neuropatólogos deben confiar en las características histopatológicas para establecer el grado de malignidad.

FOXM1, miembro de la subfamilia FOXM, es un factor de transcripción involucrado en la organogénesis, el control del ciclo celular y el mantenimiento de la estabilidad cromosómica. El transcrito de ARNm de FoxM1 se sobreexpresa en varios tipos de cáncer, y se ha visto que su sobreexpresión se asocia con la progresión maligna de los astrocitomas.

OBJETIVO: Asociar la sobreexpresión del transcrito FOXM1*3 con el grado de malignidad de los astrocitomas difusos de tipo adulto.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se realizará un estudio observacional, analítico, transversal, retrospectivo, analizando bases de datos de anatomía patológica y biología molecular de pacientes con diagnóstico de astrocitomas difusos de tipo adulto de acuerdo con la clasificación CNS5 actual de la OMS en el periodo de 2011 a 2020, para evaluar la asociación de la sobreexpresión de FOXM1*3 con el grado de malignidad determinado por histopatología.

RECURSOS E INFRAESTRUCTURA:

Recursos humanos: Médico del servicio de Neurocirugía y Neuropatólogos del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional "Siglo XXI", Doctora en Ciencias de la Unidad de Investigación en

Enfermedades Neurológicas el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional "Siglo XXI".

Recursos físicos: Expedientes y bases de datos del servicio de Anatomía Patológica y la Unidad de Investigación en Enfermedades Neurológicas.

Recursos financieros: El estudio no requiere recursos financieros adicionales.

EXPERIENCIA DEL GRUPO: La Dra. Iris Feria Romero, tutora principal es experta en biología molecular y tumorigénesis del sistema nervioso central. La tesista, residente de Neurocirugía, y la investigadora asociada, Dra. Bárbara Nettel Rueda, médico de base encargada del área de Neuro-oncología del Servicio de Neurocirugía, tienen amplia experiencia en el diagnóstico y manejo de pacientes con el diagnóstico de astrocitomas difusos de tipo adulto. El grupo de colaboración (Neurocirugía, Anatomía patológica y la Unidad de Investigación en Enfermedades Neurológicas) han trabajado en conjunto por mas de 10 años en el diagnóstico histopatológico y molecular de los gliomas difusos del tipo adulto, así como en tratamiento y seguimiento de estos pacientes.

TIEMPO A DESARROLLARSE: De enero a Julio de 2023

PALABRAS CLAVE: astrocitoma difuso de tipo adulto, *FOXM1* isoforma 3, grado de malignidad.

MARCO TEORICO

Según la clasificación de tumores del sistema nervioso central (OMS CNS5) de la Organización Mundial de la Salud de 2021, los gliomas difusos de tipo adulto (ATDG) son un grupo de neoplasias malignas compuesto por tres tipos diferentes de tumores: a) Astrocitomas, IDH-mutante, grados 2 a 4 (A2, A3 y A4); b) Oligodendroglioma, IDH-mutante y codeleciónado 1p/19q, grados 2 y 3 (O2 y O3); y c) Glioblastoma IDH-wildtype (GBM IDHwt), grado 4 (1). Aunque cada tipo de tumor tiene un perfil genético/molecular alterado, el grado de malignidad no puede definirse por las alteraciones genéticas propuestas, excepto GBM IDHwt, que se clasifica como grado 4. Por lo tanto, los neuropatólogos deben confiar en las características histopatológicas para establecer el grado de malignidad. Posteriormente, el equipo multidisciplinario decidirá el tratamiento adecuado en base al diagnóstico integrado (2, 3).

Los astrocitomas abarcan el 70-75% de los gliomas y representan el más complejo y diverso grupo de tumores neurogliales. Su comportamiento clínico depende de las características histológicas, localización topográfica y hallazgos biológicos intrínsecos, entre otros.

En el 2007 la Organización Mundial de la Salud (OMS) en una reunión de consenso con 25 patólogos y genetistas en el centro Alemán para la Investigación del Cáncer (Heidelberg), se propuso la definición de los cuatro grados de malignidad. En 2016 se realizó una actualización de criterios diagnósticos de acuerdo a marcadores moleculares introduciendo la mutación IDH como criterio para la reclasificación de algunos de estos (4). Posteriormente, en el 2021 se realizó una modificación de acuerdo a las nuevas consideraciones de diagnóstico molecular. Los gliomas grado 2 son lesiones infiltrantes de baja actividad mitótica pero que recurren, algunos tienden a avanzar a grados más altos de malignidad. En este nivel se agrupan a las demás lesiones astrocíticas fibrilares. Los gliomas grado 3 son lesiones de malignidad histológica evidente por su alta actividad mitótica, capacidad de infiltración y anaplasia por lo que la mayoría de los pacientes reciben radioterapia y quimioterapia. En este nivel se encuentra el astrocitoma anaplásico. Los gliomas grado 4 son neoplasias citológicamente malignas, con mitosis activa y tendencia a la necrosis de rápida evolución y pronóstico infausto. El glioblastoma se encontraba en este grupo; sin embargo, ahora se diferencia de los astrocitomas grado 4 por su

estado molecular de IDH-Wildtype lo cual le confiere un comportamiento clínico más agresivo y peor pronóstico (1).

Incidencia y pronóstico de los tumores cerebrales.

Los gliomas de bajo grado ocurren en adultos jóvenes, normalmente antes de los 40 años y comprenden un espectro de subtipos histológicos semejantes a las células microgliales diferenciadas sin evidencia de anaplasia. En este grupo de gliomas de bajo grado los astrocitomas difusos son los más comunes, ya que representan el 60 al 70% (2, 5).

Los astrocitomas de alto grado de malignidad pueden desarrollarse de novo (primarios) o pueden progresar de una lesión precursora de un grado más bajo (secundarios). Los astrocitomas que progresan de una lesión de menor grado de malignidad usualmente ocurren en pacientes más jóvenes y tienen un curso clínico más largo. Las lesiones primarias o de novo generalmente se desarrollan después de la quinta década de la vida con síntomas que progresan rápidamente; los astrocitomas de alto grado presentan un crecimiento acelerado de vasos de neoformación que parecen ser necesarios para su progresión (6, 7).

En México, un estudio epidemiológico descriptivo y comparativo que analiza la frecuencia de neoplasias intracraneales en 1,776 pacientes entre los años 1987 al 1994; de los cuales el 33% fueron gliomas. El glioblastoma representó el 28% de los gliomas. El promedio de vida en pacientes con glioblastoma fue de 16 meses y la mayor sobrevida se alcanzó en pacientes que se les realizó una resección radical con un tratamiento combinado de radioterapia y quimioterapia (8).

Otro estudio mexicano más reciente analizó 351 pacientes con tumores cerebrales, de los cuales el 28.2% fueron diagnosticados con un tumor astrocítico. El 27.2% se reportó como grado 2, 17.1% como grado 3 y 39.3% como grado 4 (9).

En 2008 se reportó una mediana de sobrevida para glioblastoma que varía de 12.2 a 18.2 meses, para astrocitoma grado 3 la sobrevida es de 41 meses en promedio; para gliomas de bajo grado se reporta un mejor pronóstico, aunque la mayoría de los pacientes eventualmente morirán por progresión de la enfermedad; presentando una sobrevida de 5 años en el 42 al 92% (10).

Un estudio más reciente reportó una supervivencia media para glioblastoma de 12.6 meses, astrocitoma grado 4 de 26.4 meses, astrocitoma grado 3 de 53.6 meses y grado 2 de 55.4 meses (11).

Tratamiento de los gliomas.

La resección microquirúrgica es la modalidad terapéutica más común en el tratamiento de los gliomas. Sin embargo, no existe un consenso general en la literatura sobre el papel de la extensión de la resección del tumor para mejorar el pronóstico de los pacientes. Los gliomas son difíciles de curar solo con cirugía y la mayoría de los pacientes experimentan alguna forma de recurrencia, a excepción de los tumores grado 1 según OMS.

Con respecto al tratamiento de pacientes con gliomas de alto grado de malignidad, continúa siendo un reto para la neurocirugía moderna ya que existe poca evidencia en la literatura de que un manejo quirúrgico agresivo prolongue significativamente la supervivencia (3, 10).

La radioterapia (RT) se emplea como un tratamiento complementario al tratamiento quirúrgico de los gliomas, ya sea de forma adyuvante, radical, paliativa o de rescate. Durante varias décadas no se contaba en el mercado con agentes quimioterapéuticos capaces de cruzar la barrera hemato-encefálica, razón por la cual se usó la radioterapia como única modalidad terapéutica durante más de 20 años.

Con la aparición de la temozolomida, la evolución y pronóstico de pacientes con gliomas ha mejorado en los últimos años cuando se asocia con radioterapia concomitante. La temozolomida es un agente alquilante su mecanismo de acción consiste en inhibir la replicación del DNA. Es un profármaco que se transforma de forma espontánea en el organismo a su metabolito activo, la monometil triazenoimidazol carboxamida (MTIC), el mismo metabolito activo de la dacarbazina. Durante la activación de la temozolomida, la dacarbazina, entre otros, se produce metildiazonio durante el proceso oxidativo y rápidamente se escinde el nitrógeno (N₂) y un ion carbono CH₃⁺ que actúa como elemento "alquilante", el cual provoca la metilación de algunas bases del ADN (fundamentalmente la guanina). Además, en el

proceso oxidativo que conduce a la activación del fármaco pueden formarse otros radicales libres capaces de provocar degradación del ADN e incluso rupturas cromosómicas (12).

La biología molecular de los gliomas difusos del tipo adulto.

Por más de un siglo, el diagnóstico de los gliomas difusos (DG) se basaba primordialmente en los hallazgos histopatológicos; sin embargo, con la identificación de marcadores moleculares relevantes en el comportamiento clínico de estos tumores, se han tenido que replantear los criterios diagnósticos y definiciones.

En el caso de las alteraciones genéticas presentes en los astrocitomas grado 2, se ha observado una trisomía del cromosoma 7 o al menos una ganancia del locus 7q como la anormalidad más común, sin identificar algún gen relevante, así como silenciamiento por hipermetilación de los genes MGMT del locus 10q26 (13,14).

Las alteraciones genéticas de los astrocitomas grado 3 presentan ganancia en el cromosoma 7 como mutaciones en TP53 e IDH1. También se han observado mutaciones en el gen RB1 en el 25% de los tumores (15,16).

Por último, los glioblastomas constituyen alrededor del 50% de todos los gliomas así como el 30% de todos los tumores intracraneales. Las alteraciones genómicas en este tipo de tumores son las más estudiadas por su frecuencia y malignidad. Las aberraciones cromosómicas más frecuentes en los glioblastomas es la pérdida de material genético en el cromosoma 10. Los estudios moleculares en la formación de este tipo de tumores han permitido establecer el concepto del glioblastoma primario y secundario. Los glioblastomas pueden ser primarios o de “novo” (GB1) y suelen aparecer entre los 60-70 años; los secundarios (GB2) inician como un astrocitoma de bajo grado y posteriormente sufre una transformación anaplásica, suelen presentarse entre los 40-50 años. En el GB1 se presenta generalmente amplificación en los genes EGFR, CDK4 y MDM2 o MDM4; la eliminación homocigota de los genes CDKN2A y p14ARF; mutación/eliminación homocigota del gen RB1; mutación del gen PTEN; monosomía del cromosoma 10. El GB2 presenta pérdidas alélicas en 19q y 13q; la hipermetilación del promotor del gen RB1; la sobreexpresión de PDGFRA; una frecuencia de mutación en los genes TP53 e IDH1 en 2/3 partes de

los casos, a diferencia del GB1 que solo se presentan mutaciones en el gen TP53 en menos del 30% de los casos (16, 17).

En 2022 se elaboró una guía para la utilización de marcadores moleculares en el diagnóstico de gliomas difusos por el Colegio Americano de Patólogos en colaboración con la Asociación Americana de Neuropatólogos, la Asociación de Patología Molecular y la Sociedad de Neuro-Oncología (15). 13 recomendaciones basadas en evidencia, intentan establecer un algoritmo para el diagnóstico y mejorar el manejo integral de estos tumores.

1. El estado mutacional de IDH debe realizarse en todos los gliomas difusos
2. El estado de ATRX debe evaluarse en todos los DG mutantes de IDH a menos que muestren codeleción 1p/19q
3. El estado de TP53 debe evaluarse en todos los DG mutantes de IDH a menos que muestren codeleción 1p/19q
4. La codeleción 1p/19q debe evaluarse en GD con mutación IDH a menos que muestren pérdida de ATRX o mutaciones en TP53
5. La prueba de delección homocigota de CDKN2A/B debe realizarse en astrocitomas con mutación IDH
6. La prueba de metilación del promotor MGMT debe realizarse en todos los GB, IDH-Wildtype
7. Para los DG mutantes en IDH, es posible que no sea necesario realizar pruebas de metilación del promotor de MGMT
8. Las pruebas de mutación del promotor de TERT se pueden usar para proporcionar más apoyo para el diagnóstico de oligodendroglioma y de IDH-WT GB
9. Para los DG de grado histológico 2-3 que son IDH-WT, se deben realizar pruebas para la ganancia del cromosoma 7 / pérdida completa del cromosoma 10, amplificación de EGFR y mutación del promotor de TERT para establecer el diagnóstico de GB, IDH-WT, grado 4
10. La prueba H3 K27M debe realizarse en GD que involucren la línea media en el contexto clínico y entorno patológico
11. La prueba H3 G34 se puede realizar en pacientes pediátricos y adultos jóvenes con DG IDH-WT
12. La prueba de mutación BRAF (V600) se puede realizar en DG que son IDH-WT y H3-WT

13. Las pruebas de MYB/MYBL1 y FGFR1 se pueden realizar en niños y adultos jóvenes con DG que son histológicos grado 2-3 y son IDH-WT y H3-WT

Marcadores asociados con la malignidad del glioma.

La identificación de células tumorales y la etapa de evolución son primordiales en el diagnóstico y pronóstico del cáncer. Los marcadores de cáncer se clasifican en celulares y humorales; los primeros están asociados con las células cancerosas, se obtienen por biopsia y son usados en pruebas de patología (17).

Los eventos involucrados en la respuesta inmunológica, regulación de la transcripción de genes (factores de transcripción) y apoptosis, que inicialmente se estudiaron como probables blancos terapéuticos en el tratamiento del tumor, en este momento permiten evaluar la malignidad del glioma por su correlación en la expresión del RNAm y su proteína:

Factores de transcripción.

Los procesos de señalización que se traducen en el citoplasma, se originan en la superficie celular por la activación de los receptores de factores de crecimiento y citocinas, posteriormente llegan al núcleo donde regulan la transcripción de genes. La represión y activación de la transcripción de genes son necesarias para dar respuesta a la señalización celular, por ello, determinados factores de transcripción (proteínas capaces de regular la expresión génica en el núcleo en respuesta a señales citoplasmáticas) regulan procesos de proliferación celular, inducción de apoptosis y/o reparación del DNA, cuya alteración está asociada a los procesos tumorales. Los factores de transcripción que se unen a la RNA pol II se dividen en a) los factores generales son necesarios para iniciar la síntesis de RNA en todos los promotores y forman el aparato de transcripción basal; b) Los factores ascendentes reconocen promotores del DNA (elementos específicos de consenso cortos) localizados ascendentemente en el punto de inicio de todos los tejidos, son no están regulados y son necesarios para incrementar la eficiencia de la iniciación; c) Los factores inducibles son semejantes a los factores ascendentes, sin embargo están regulados, las secuencias de unión se conocen como elementos de respuesta y se sintetizan o activan a tiempos y tejidos específicos (12, 14).

FOXM1

La familia de factores de transcripción del tipo “forkhead” presente en los mamíferos, está compuesta por más de 50 proteínas y comparten el dominio de unión a DNA tipo extremo hélice. Dentro de esta familia, la proteína FoxM1 se expresa principalmente en tejido fetal y está ausente en células diferenciadas. Esta proteína es clave en la regulación del ciclo celular para la transición de la fase G1 a S y en la progresión de la mitosis, específicamente como mediador en la progresión G2-M y en la segregación cromosómica junto con Nek2, KIF20A, CENP-A, CENP-F, CDc25A, CDc25B, p27Kip1. La actividad transcripcional de *FoxM1* depende estrechamente del ciclo celular por requerir la unión del complejo Cdk (cinasa dependiente de ciclina)–ciclina, además la pérdida de *FOXM1* causa la amplificación del centrosoma y una catástrofe en la mitosis. El gen de FoxM1 se compone de 9 exones, de los cuales dos se expresan de forma alternativa dando lugar al menos a 2 isoformas.

FOXM1, miembro de la subfamilia *FOXM*, es un factor de transcripción involucrado en la organogénesis, el control del ciclo celular y el mantenimiento de la estabilidad cromosómica (18, 19). El transcrito de ARNm de FoxM1 se sobreexpresa en varios tipos de cáncer, como el de próstata, mama, pulmón, ovario, colon, páncreas, estómago, vejiga, hígado, riñón y gliomas de alto grado (20, 21). El gen FOXM1 está ubicado en el cromosoma 12p13.33 del genoma humano y consta de 10 exones, 9 de los cuales dan lugar a la isoforma 1 (FOXM1*1), la proteína más grande; la pérdida del exón 6 (dirección 5' a 3') da lugar a la isoforma 2 (FOXM1*2); y la pérdida de los exones 6 y 9 da lugar a la isoforma más pequeña (FOXM1*3). Ahora se reconoce que las isoformas 4 y 5 son similares a la isoforma 3, pero con modificaciones menores en los exones 3, 5 o 7 (22). Aunque Van Den Boom et al. (2003) identificaron por primera vez la sobreexpresión de FOXM1 en astrocitomas con diferentes grados de malignidad, Liu et al. (2006) fueron los primeros en proponer que la expresión de la isoforma más pequeña del transcrito FOXM1B estaba asociada con la progresión maligna de los astrocitomas (21-23).

Observaron por la técnica de RT-PCR semi-cuantitativa una asociación entre el nivel de expresión de la isoforma FOXM1B y el grado de malignidad de muestras de astrocitomas de bajo grado, astrocitoma anaplásico y glioblastoma (21).

JUSTIFICACIÓN

Los gliomas constituyen más del 30% de los tumores intracraneales en México. La cirugía resectiva en combinación con la radio y quimioterapia, es la opción para el tratamiento de los gliomas de alto grado y su adecuado diagnóstico define la esperanza de vida del paciente, principalmente en aquellos que presentan gliomas de bajo grado. Esta responsabilidad recae principalmente en el patólogo especializado quién dictamina el grado de malignidad del glioma con base en su experiencia. Hasta el momento no existe un marcador molecular cuantitativo que exprese el grado de malignidad de los gliomas difusos de tipo adulto (ATDG). El diagnóstico de estas neoplasias se basa en las características histopatológicas definidas por neuropatólogos sin embargo existe una discrepancia interobservador sobre todo en los tumores que tienen características heterogéneas de bajo y alto grado de malignidad. Es por eso que, una vez establecidos los parámetros en la presencia y expresión de estas proteínas de acuerdo al grado de malignidad, se apoyará el diagnóstico, tratamiento individualizado y manejo multidisciplinario de este tipo de neoplasias.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los gliomas difusos de tipo adulto (ATDG) son neoplasias malignas que se comportan de manera más o menos agresiva de acuerdo al grado de malignidad establecido en la clasificación de tumores del Sistema Nervioso Central; sin embargo los neuropatólogos solo cuentan con las características histopatológicas, particularmente en los grados 2 y 3, para establecer un diagnóstico. De esta manera, se ha encontrado una discrepancia interobservador y, en ocasiones un curso clínico de la enfermedad bastante heterogéneo en este grupo de neoplasias por lo que no es posible definir con certeza el manejo adecuado y pronóstico al momento del diagnóstico.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe una asociación entre la sobreexpresión del transcrito FOXM1*3 con el grado de malignidad de los astrocitomas difusos de tipo adulto de pacientes intervenidos del 2011 al 2020 en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI?

OBJETIVO GENERAL

Asociar la sobreexpresión del transcrito FOXM1*3 con el grado de malignidad de los astrocitomas difusos de tipo adulto.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Integrar una cohorte retrospectiva de pacientes con diagnóstico de astrocitomas difusos de tipo adulto operados en el servicio de Neurocirugía del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI
2. Analizar la sobreexpresión de *FOXM1*3* en pacientes con diagnóstico de astrocitomas difusos de tipo adulto
3. Correlacionar el grado de malignidad determinado por la sobreexpresión de FOXM1*3 con el diagnóstico histopatológico actual de los neuropatólogos.

HIPÓTESIS GENERAL

La sobreexpresión del transcrito FOXM1*3 se asocia con el grado de malignidad de los astrocitomas difusos de tipo adulto.

MATERIAL, PACIENTES Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN:

1. Por la intervención. **Observacional**
2. Por el tiempo en que se produjo la información: **Retrospectivo**

3. Por la interpretación de resultados. **Analítico**
4. Por la medición de variables de resultado. **Transversal.**

UNIVERSO DE TRABAJO:

Pacientes con diagnóstico histopatológico de astrocitoma difuso de tipo adulto operados en el Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda” del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

MUESTRA:

Pacientes con diagnóstico de astrocitoma difuso de tipo adulto que se sometieron a resección del tumor de 2011 a 2020.

SELECCIÓN DE PACIENTES

TAMAÑO DE MUESTRA: Dado que es un estudio transversal no requiere cálculo del tamaño de muestra, se incluirán todos los pacientes que cumplan los criterios de selección en el periodo referido.

Tipo de Muestreo: No probabilístico por conveniencia

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

1. Pacientes mayores de 18 años operados en el Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda” del Centro Médico Nacional Siglo XXI de 2011 a 2020.
2. Pacientes con diagnóstico histopatológico de astrocitoma difuso de tipo adulto según la clasificación de tumores del sistema nervioso central (OMS CNS5 2021) corroborado por tres neuropatólogos.
3. Pacientes con medición de sobreexpresión de *FOXM1**3.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

1. Pacientes con diagnóstico diferente al de astrocitoma difuso de tipo adulto
2. Pacientes sin la evaluación del transcrito *FOXM1**3.

DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES:

VARIABLE DESCRIPTORA	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLE.	ESCALA DE MEDICION.	INDICADOR.
Edad	Numero de años que tiene el paciente desde que nace hasta el momento de ingreso al estudio.	Numero de años reportado en el expediente clínico.	Descriptiva	Cualitativa Continua	Años
Sexo	Condición orgánica que diferencia hombres y mujeres	Condición orgánica reportada por el paciente y corroborado en el expediente clínico.	Descriptiva.	Cualitativa Nominal.	Hombre / Mujer
<i>FoxM1</i>	Proteína que regula el ciclo celular y la progresión en la mitosis en el tejido fetal.	RT-PCR: Extracción de RNA total, síntesis de cDNA e identificación por primers específicos.	Descriptiva.	Cuantitativa continua	Cifra
Astrocitoma grado 2	Tumores de estirpe astrocítica fibrilar, son neoplasias de límites mal definidos, infiltrantes, recidivantes y tienden a transformarse en malignos.	<u>Histopatológicamente:</u> es difuso, fibrilar, células con núcleos moderadamente pleomorficos, procesos celulares que forman un fondo fibrilar glial. Astrocitomas gemistocíticos, característicos por un citoplasma prominente y eosinófilo copioso y procesos celulares cortos. Astrocitomas protoplásmicos caracterizados por un citoplasma incóspicu (muy pequeño) y proceso celular. Positivo a GFAP por inmunohistoquímica.	Descriptiva	Cualitativa Nominal	Sí / No

Astrocitoma grado 3	Tumor de forma neoplásica de alta malignidad, infiltrantes y con posibilidad de metastizar. El más común es el Astrocitoma anaplásico.	<u>Histopatológicamente:</u> Actividad mitótica. Mayor densidad celular y más núcleos pleomórficos que un grado 2. Mayor número de astrocitomas gemistocíticos que el grado 2.	Descriptiva.	Cualitativa	Sí / No
Astrocitoma grado 4	Tumor difusamente infiltrante y pobremente diferenciado de las células gliales, suele originarse en la sustancia blanca. El más común es el glioblastoma.	Patología del grado 3. Proliferación microvascular y/o necrosis.	Descriptiva.	Cualitativa	Sí / No

PLAN DE RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Se revisarán expedientes y bases de datos de pacientes con el diagnóstico de astrocitomas difusos de tipo adulto previamente corroboradas por tres neuropatólogos (al menos dos de ellos debieron coincidir en el diagnóstico) así como base de datos de pacientes con dicho diagnóstico que cuenten con la determinación de sobreexpresión de *FOXM1**3.

FACTIBILIDAD DEL ESTUDIO:

El estudio es factible debido a que se cuenta con la disponibilidad de recursos humanos y materiales para su realización, así como el área física necesaria para el análisis de datos.

ASPECTOS ÉTICOS:

- Apego a normativas y tratados

Este protocolo se realiza con apego y fundamentado a los lineamientos actuales de las guías internacionales así como a la normatividad ética vigente.

Este estudio considera los aspectos éticos en la declaración de Helsinki, en su última modificación por la 64ª Asamblea General, Fortaleza, Brasil, octubre 2013. Apegándose a lo señalado en: los principios generales; los riesgos, costos y beneficios; los requisitos científicos y protocolos de investigación; los comités de investigación; la privacidad y confidencialidad; así como en el consentimiento informado.

Este estudio considera también los principios éticos básicos señalados en el Informe Belmont (1991) que sustentan toda la investigación con sujetos humanos con sus 4 principios (no maleficencia, beneficencia, autonomía y justicia).

Además la presente investigación se apega a las pautas publicadas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) ya que puede justificarse éticamente pues se realiza de manera tal que respeta y protege a los sujetos de esa investigación, justa para ellos y moralmente aceptable en nuestro medio.

Considera también que deberá de obtenerse la aprobación o autorización por parte del Comité de Ética en investigación y el Comité Local de Investigación en Salud el salud antes de realizarse la investigación, quedando siempre sujeta las revisiones adicionales que sean necesarias durante la investigación, incluyendo el seguimiento de su progreso.

Se apega de igual forma a la Pauta 4 del CIOMS, para justificar la imposición de cualquier riesgo a los participantes en una investigación relacionada con la salud, esta deberá tener valor social y científico. El investigador(es) y el Comité de Ética de la investigación deberán asegurarse de que los riesgos para los participantes se minimizarán y se equilibrarán apropiadamente en relación con la perspectiva de obtener un posible beneficio individual y el valor social y científico.

Así mismo este estudio considera los aspectos señalados en la Ley General de Salud (7 de febrero de 1984, última reforma DOF 01-06-2021) en su Título quinto, Investigación para la salud, Capítulo único: desarrollo de acciones que comprende al investigación para la salud (artículo 96); bases conforme a las cuales se debe desarrollar la investigación en seres humanos (artículo 100); y sanciones correspondientes que se hará acreedor quien realice investigación en seres humanos contraviniendo lo dispuesto en dicha Ley (artículo 101).

En este estudio se considera además el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud (6 de enero de 1987, última reforma DOF 02-04-2014): en lo que respecta al riesgo de la investigación (artículo 17), el presente estudio se clasifica en la siguiente categoría: **Investigación sin riesgo, pues emplea técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan, entre los que se consideran: cuestionarios, entrevistas, revisión de expedientes clínicos y otros, en los que no se le identifica ni se tratan aspectos sensitivos de su conducta.**

La conducción de la investigación estará a cargo de un investigador principal (artículo 113), que desarrollará la investigación de conformidad con un protocolo (artículo 115), estando encargado de la dirección técnica del estudio y con las atribuciones señaladas (artículo 116), siendo el quién seleccione a los investigadores asociados (artículo 117), así como al personal técnico y de apoyo (artículo 118), teniendo la responsabilidad, al término de la ejecución de la investigación, de presentar al comité de investigación de la institución de atención a la salud un Informe técnico (artículo 119), pudiendo publicar informes parciales y finales del estudio (artículo 120).

La selección de pacientes se realizará de manera imparcial, sin sesgo social, racial, preferencia sexual y cultural, respetando en cada momento la libertad y autonomía de los participantes.

- Confidencialidad

Los resultados obtenidos solo serán empleados con fines científicos, con la seguridad que no será identificado ningún sujeto en las publicaciones que se desprendan de este estudio, resguardando la información obtenida a través del uso de una sola base de datos solo por el investigador responsable que propone la presente investigación.

Se protegerá la información obtenida, utilizando para la identificación de los sujetos solo un número de Folio; todos los resultados serán utilizados cuando se requieran y, en caso de publicar los resultados, no serán revelados los datos personales.

- Consentimiento informado

De acuerdo con los principios establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la salud: Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección I, investigación sin riesgo, no requiere consentimiento informado ya que se revisarán y analizarán bases de datos y expedientes sin realizarse intervenciones o modificaciones en los aspectos fisiológicos, psicológicos o sociales de los pacientes, en concordancia con lo establecido en el reglamento y aspectos éticos de la investigación en seres humanos.

- Potenciales beneficios

Si bien; no se obtendrán beneficios directos para el paciente de forma inmediata, el beneficio será de carácter científico y los resultados de este estudio brindarán información relevante y se incrementará el conocimiento sobre el comportamiento, pronóstico y riesgo de recurrencia de los astrocitomas difusos de tipo adulto proporcionando beneficios sustanciales en los protocolos de atención de los pacientes. El objetivo principal es analizar la relación entre la expresión de los marcadores moleculares y la malignidad de este tipo de tumores, por lo que los resultados serán una herramienta para al médico a cargo del paciente para la toma de decisiones con respecto al empleo de tratamiento adyuvante, necesidad de vigilancia más estrecha así como valoración del riesgo e identificación temprana de recurrencias para mejorar la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes con este diagnóstico.

- Riesgos de la investigación:

Protocolo considerado como investigación sin riesgo para la salud, ya que al tratarse de un estudio retrospectivo no se modificara ningún tratamiento ni los resultados de este en base a el reglamento de la Ley general de Salud en Materia de Investigación en salud, título segundo, capítulo I, artículo 17.

- Balance riesgo/beneficio:

Se considera que el beneficio de este protocolo es MAYOR que el riesgo ya que se obtendrán datos de utilidad para el conocimiento sobre el comportamiento y pronóstico de los pacientes con astrocitomas difusos de tipo adulto para mejorar el manejo integral de esta patología y no representa riesgo alguno a los pacientes de la investigación debido a que se recabarán los datos en base a el expediente clínico así como bases de datos.

RECURSOS HUMANOS, FÍSICOS Y FINANCIEROS:

El estudio será realizado por:

1. Dra. Isaura Zoé Chávez Valderrama residente de 6to año de la especialidad de Neurocirugía
2. Investigador de la Unidad de Investigación en enfermedades Neurológicas (Dr. Iris a. Feria Romero, como investigador principal).
3. Médico del servicio de Neurocirugía (Dra. Bárbara Nettel Rueda, como asesor clínico y metodológico)

Recursos físicos: Se cuenta con los expedientes físicos en el archivo del Hospital de Especialidades y las bases de datos de un estudio previo para la obtención del diagnóstico histopatológico y determinación de sobreexpresión de *FOX M1*3*.

Recursos financieros: El servicio de Neurocirugía, Anatomía Patológica y la Unidad de Investigación en Enfermedades Neurológicas cuenta con los recursos requeridos para la realización del estudio por lo que no se requiere de recursos financieros.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Para variables cuantitativas, de acuerdo a las pruebas de distribución, si es normal, se resumirán en medias y desviación estándar, si no es normal en medianas y rangos. Los datos se resumirán en gráficas y tablas.

Los resultados se analizarán por la prueba ANOVA no paramétrica (U-Mann Whitney) y con el programa de cómputo Prima STAT v 12.0, se considerada significativa una $p \leq 0.05$.

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DEL PACIENTE Y DE LA MUESTRA

Se incluyeron 88 pacientes con diagnóstico de ATDG. La mediana de edad general fue de 46 años (rango de 17 a 85 años), pero aumentó progresivamente según el grado de malignidad (34 años en el grado 2, 37,5 años en el grado 3 y 61 años en el grado 4). La mayoría de las muestras procedían de pacientes masculinos (46/88), al igual que la mayoría de los tumores de grado 2 (16/25). El hemisferio derecho fue el más afectado en el 55% (48/88) de los pacientes. Se observó afectación de un solo lóbulo en el 75% (66/88) de los pacientes, siendo el lóbulo frontal el más afectado. La diferenciación de células astrocíticas se encontró en el 85% (75/88) de los casos, y el diagnóstico histopatológico más frecuente fue GB IDHwt en el 51% (45/88) (tabla 1).

Tabla 1. Datos demográficos, localización, lateralidad, diagnóstico y supervivencia de los pacientes con gliomas

Datos demográficos	Total	Grado 2	Grado 3	Grado 4
Número de pacientes, n (%)	88 (100%)	25 (27.8%)	12 (13.3%)	51 (56.7%)
Edad, mediana de años [p25 – p75]	46 [34.0 – 64.3]	34 [30 – 40]	37.5 [34 – 45.5]	61 [42 – 69.5]
Hombres, n (%)	46 (52.3%)	16 (64%)	5 (41.7%)	25 (49%)

Lóbulos afectados	n (%); Izquierdo	n (%); Izquierdo	n (%); Izquierdo	n (%); Izquierdo
1 lóbulo	62 (70.5%); 33	20 (80%); 13	7 (58.3%); 6	35 (68.6%); 14
2 lóbulos	21 (23.9%); 5	4 (16%); 1	4 (33.3%); 1	13 (25.5%); 3
3 lóbulos	4 (4.5%); 3	1 (4%); 1	1 (8.3); 1	2 (3.9%); 1
Extralobar	1 (1.1%)			1 (2%)
Localización lobar	n (%); Izquierdo	n (%); Izquierdo	n (%); Izquierdo	n (%); Izquierdo
Frontal	47 (54.4%); 25	16 (64%); 10	9 (75%); 6	22 (43.1%); 9
Parietal	27 (38.9%); 12	4 (16%); 3	4 (33.3%); 3	19 (37.3%); 6
Temporal	34 (30%); 13	10 (40%); 5	5 (41.7%); 2	19 (37.3%); 6
Occipital	8 (8.9%); 2	1 (4%); 0	0 (0%); 0	7 (13.7%); 2
Diagnóstico Histopatológico y molecular	n (%); Izquierdo	n (%); Izquierdo	n (%); Izquierdo	n (%); Izquierdo
A 2	15 (17%); 8	15 (60%); 8		
O 2	10 (11.4%); 7	10 (40%); 7		
A 3	9 (10.2%); 6		9 (75%); 6	
O 3	3 (3.4%); 2		3 (25%); 2	
A 4	6 (6.8%); 2			6 (11.8%); 2
GB	45 (51.1%); 16			45 (88.2%); 16

A 2, A 3 o A 4: Astrocitoma grado 2, 3 o 4; O 2 o O 3: Oligodendroglioma grado 2 o 3; GB: Glioblastoma IDHwt.

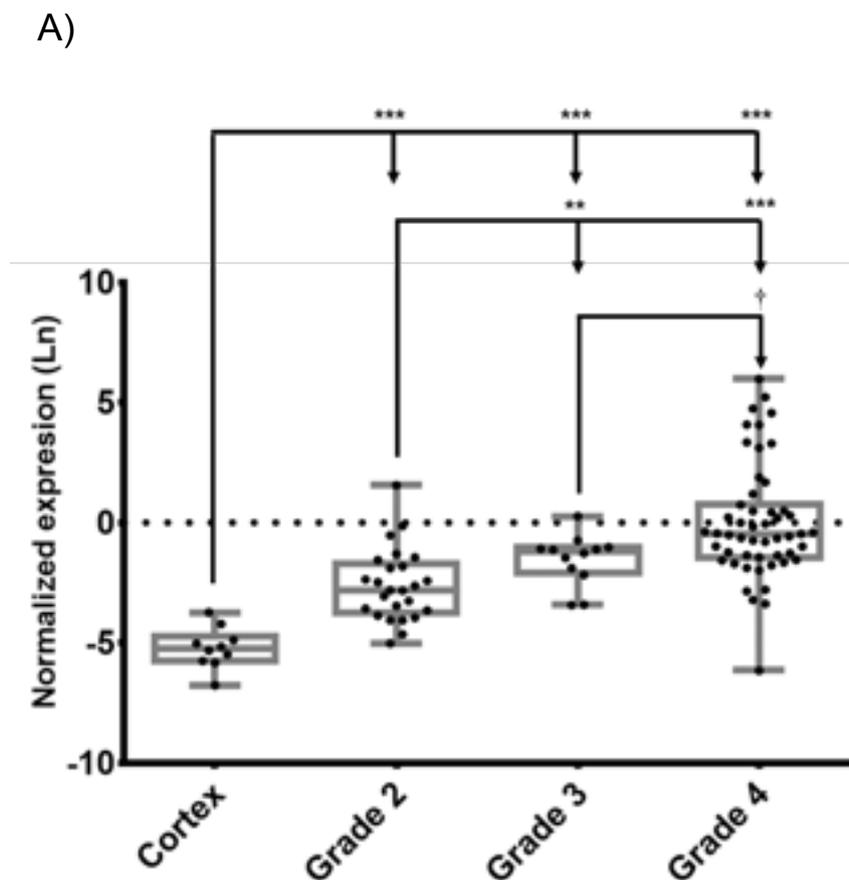
En todos los grados de astrocitoma (2 a 4) y O3, la mutación IDH1 estaba presente. En O2, la mutación IDH1 se identificó en el 60% (6/10) de los casos. Entre los cuatro pacientes sin mutaciones de IDH1, un paciente era mutante de IDH2; en dos pacientes, no se pudo determinar el estado mutacional de IDH2 y el cuarto paciente era IDH1/2 de tipo salvaje. Estos cuatro pacientes fueron clasificados como oligodendrogliomas ya que todos presentaban la codeleción 1p/19q.

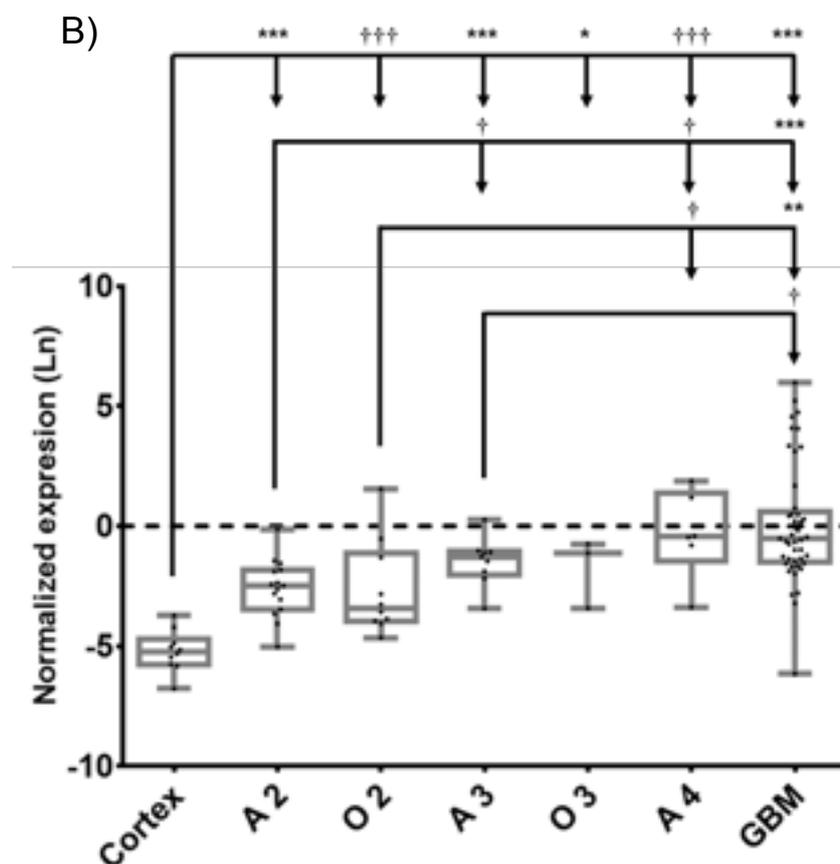
FOXM1*3 EXPRESIÓN EN ATDG.

Las comparaciones de la expresión media de FOXM1*3 (Ln) entre el grupo de control y los grados 2 a 4 de ATDG se muestran en la Figura 1A. El análisis estadístico demostró diferencias significativas entre todos los grupos. Se observó un valor de p más bajo entre el grupo de control y todos los grados ATDG; este valor de p también se encontró entre los tumores de grado 2 y 4 ($p < 0,0001$).

Cuando se compararon las medias de expresión de FOXM1*3 (Ln), se encontró una diferencia significativa entre el grupo de control y todos los demás grupos ATDG ($p < 0,01$ a $p < 0,0001$) (Figura 1B).

Fig. 1





El grupo A2 mostró diferencias significativas en comparación con los grupos A3 ($p < 0,05$), A4 ($p < 0,05$) y GBM IDHwt ($p < 0,0001$). El grupo O2 también mostró una diferencia significativa en comparación con los grupos A4 ($p < 0,05$) y GBM IDHwt ($p < 0,001$).

Se observó un aumento gradual entre los grados histológicos al comparar la mediana y los rangos [p25 – p75] de la sobreexpresión de FOXM1*3. La sobreexpresión de FOXM1*3 en el grupo de grado 2 fue 10 veces mayor que en el grupo de control, sin mostrar superposición de los rangos; el grupo de grado 3 mostró una expresión 5 veces mayor que el grupo de grado 2, con una superposición en el rango de 0,142 a 0,161, pero con significancia estadística ($p < 0,01$). La mediana de la sobreexpresión de FOXM1*3 del grupo de grado 4 fue 2 veces mayor que la del grupo de grado 3, con una superposición entre el intervalo de 0,247 a 0,343, mostrando significancia estadística ($p = 0,011$). La Tabla 2 muestra los rangos de sobreexpresión de FOXM1*3 que definen los grados de malignidad de ATDG.

Tabla 2. Expresión normalizada del transcrito de FOXM1*3 en diferentes grupos de grado de glioma difuso de tipo adulto.

Grupo	Muestras incluidas	n	<i>FOXM1*3/IPO8</i> Mediana [p25-p75]
Control	Corteza normal	10	0.005 [0.003 – 0.007]
Grado 2	A2 y O2	25	0.060 [0.026 – 0.161]
Grado 3	A3 y O3	12	0.302 [0.142 – 0.343]
Grado 4	A4 y GB IDHwt	51	0.626 [0.247 – 1.864]

Al comparar la mediana y los rangos [p25 – p75] de la sobreexpresión de FOXM1*3 con los diagnósticos de diferenciación celular, se observó una superposición no estadísticamente significativa entre los rangos de A2 y O2 ($p = 0,495$). Además, se observaron diferencias significativas entre los gliomas A2 y A3, los gliomas A2 y A4 y los A2 y GBM IDHwt. Del mismo modo, se observaron diferencias significativas entre A3 y GBM IDHwt ($p = 0,0373$), aunque se identificó una superposición en el rango de 0,238 a 0,338. La sobreexpresión de FOXM1*3 no discriminó entre A4 y GBM IDHwt ($p = 0,966$). Finalmente, O3 no mostró diferencias significativas cuando se comparó con los gliomas A2, O2, A3, A4 y GBM IDHwt ($p=0.3015$, $p=0.3706$, $p=1.0$, $p=0.1667$ y $p=0.1975$, respectivamente).

CORRELACIÓN DE LA EXPRESIÓN FOXM1*3 Y ATDG

La correlación de los valores de expresión de FOXM1*3 con los grupos de grado de malignidad fue de 0,6858 (IC 95 % = 0,5601 – 0,7807, $p < 0,0001$), y entre los valores de FOXM1*3 y el diagnóstico específico de ATDG fue de 0,6647 (IC 95 % = 0,5328 – 0,7650, $p < 0,0001$).

DISCUSIÓN

El presente estudio muestra que la cuantificación normalizada de la transcripción FOXM1*3, que se sobreexpresa en los ATDG, permite discriminar entre los grados de malignidad.

Las características clínicas y demográficas de la muestra analizada en este estudio fueron consistentes con otras cohortes publicadas y con el último reporte epidemiológico publicado por el Central Brain Tumor Registry of the United States (CBTRUS).

Desde 2016, la clasificación del SNC de la OMS ha propuesto incluir el estado mutacional del gen IDH y la codeleción 1p/19q en el diagnóstico de gliomas difusos. Sin embargo, no se ha propuesto ninguna estrategia para discriminar el grado de malignidad, excepto marcadores moleculares específicos (p. ej., deleción homocigótica de CDKN2A/B en astrocitomas IDHmut clasificados como grado 4). Aunque la determinación de Ki67 no se considera en el diagnóstico integrado de ATDG, en la práctica, el anticuerpo monoclonal MIB-1 todavía se usa para detectar el antígeno Ki67 como marcador de proliferación celular en muestras fijadas en formalina e incluidas en parafina.

Ki-67 es una proteína nuclear con dos isoformas de 345 y 395 kDa que se expresa únicamente en las fases activas del ciclo celular. Durante la interfase, se detecta dentro del núcleo y, durante la mitosis, en la superficie de los cromosomas. La identificación del índice de marcaje Ki67/MIB-1 (Ki67 LI) por métodos manuales ha mostrado una alta variabilidad estadística entre los diferentes grados de malignidad del astrocitoma. Por lo tanto, Ki67 LI solo no puede usarse como herramienta de diagnóstico o para determinar el pronóstico de los pacientes. Hsu et al. (2003) publicaron un estudio en el que se analizaron 60 tumores astrocíticos (20 astrocitomas, 20 astrocitomas anaplásicos y 20 glioblastomas) para comparar cuatro métodos diferentes para obtener Ki-67 LI (porcentaje de células tumorales inmunorreactivas en el área evaluada), con base en la clasificación de tumores del SNC de 1999. Sin embargo, este método no pudo discriminar entre astrocitomas anaplásicos y glioblastomas. Según la clasificación de la OMS de 2016, la evaluación semicuantitativa de Ki-67 LI para astrocitomas difusos de grado II se considera < 4 %, para astrocitomas de grado III entre 5 y 10 % y glioblastomas entre 15 y 20 %, aunque la variabilidad entre observadores sigue siendo un tema recurrente. En un estudio reciente, Nielsen et al. (2018) propusieron técnicas inmunohistoquímicas automatizadas para la cuantificación digital y manual de núcleos marcados (puntos calientes) para determinar Ki-67 LI. Los resultados mostraron menor variabilidad usando el método digital que el conteo manual. Sin

embargo, el conteo digital tiene algunas limitaciones, como generar un margen de error del 5%.

La sobreexpresión de las transcripciones de FOXM1 se ha informado ampliamente en la progresión y patogenicidad de diferentes tipos de cáncer, incluidos los gliomas. Además, se ha informado que FOXM1B está asociado con la progresión del glioma usando un método de RT-PCR semicuantitativo. En la presente investigación, pudimos corroborar que la expresión de FOXM1*3 en una corteza cerebral sana es limitada e incluso más baja que FOXM1*2 (0,005 [0,003 - 0,007] frente a 0,01 [0,007 - 0,059]), lo que convierte a FOXM1*3 en un buen marcador para la identificación de células en fase activa del ciclo celular (datos no mostrados).

En el presente estudio, se demostró una diferencia estadísticamente significativa en los niveles de transcripción de FOXM1*3 entre A2 y A2. A3, A2 frente a A4, A2 frente a GBM IDHwt y A3 vs. GBM IDHwt grupos astrocíticos. En contraste, esta diferencia no se observó entre A3 vs. A4 o A4. contra GBM IDHwt, lo que podría explicarse por los pocos casos de gliomas A3 y A4 analizados. Además, no se observaron diferencias significativas entre el grupo O3 (n = 3) y cualquier otro glioma difuso.

CONCLUSIONES

Con base en estos resultados, un método cuantitativo que utilice la expresión de FOXM1*3 como marcador molecular sería útil para determinar el grado de malignidad de los gliomas difusos de tipo adulto en casos de controversia (presencia o ausencia de actividad mitótica sustancial) en la estadificación neuropatológica.

Se encontró una asociación significativa entre el grado de malignidad y la sobreexpresión de FOXM1*3 en gliomas difusos de tipo adulto. Al correlacionarse con el grado histopatológico, FOXM1*3 se puede utilizar como marcador para diferenciar el grado de malignidad de los gliomas difusos de tipo adulto, independientemente de la diferenciación de células astrocíticas u oligodendrocíticas y correlacionarlo con el valorado por el neuropatólogo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. Louis, D.N., Perry, A., Wesseling, P., Brat, D.J., Cree, I.A., Figarella-Branger, D., et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro Oncol.* 2021; 23(8): 1231- 51. doi: 10.1093/neuonc/noab106.
2. Cohen, A.L., Colman, H. Glioma biology and molecular markers. *Cancer Treat Res.* 2015; 163: 15-30. doi: 10.1007/978-3-319-12048-5_2.
3. Stupp, R., Brada, M., van den Bent, M.J., Tonn, J.C., Pentheroudakis, G. ESMO Guidelines Working Group. High-grade glioma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2014; 25 Suppl 3: iii93-iii101. doi: 10.1093/annonc/mdu050.
4. Louis, D.N., Perry, A., Wesseling, P., Brat, D.J., Cree, I.A., Figarella-Branger, D., et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol.* 2016; 131(6): 803-20. doi: 10.1093/neuonc/noab106.
5. Ostrom, Q.T., Gittleman, H., Truitt, G., Boscia, A., Kruchko, C., Barnholtz-Sloan, J.S. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2011-2015. *Neuro Oncol.* 2018; 20 (suppl 4):iv1-iv86. doi: 10.1093/neuonc/noy131.
6. Ohgaki, H., Kleihues, P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2005; 64(6): 479-89. doi: 10.1093/jnen/64.6.479.
7. Chen, R., Smith-Cohn, M., Cohen, A.L., Colman, H. Glioma subclassifications and their clinical significance. *Neurotherapeutics* 2017; 14(2): 284-297. doi: 10.1007/s13311-017-0519-x.
8. Lopez-Gonzalez MA, Sotelo J. Brain tumors in Mexico: characteristics and prognosis of glioblastoma. *Surg Neurol.* 2000; 53(2):157-62.
9. Beltrán, J.Q., Soto-Abraham, J.E., Vidaurreta-Serrano, J., Macias, L.G.C., Apo, E.G., Ogando-Rivas, E. Astrocytic Tumors in Mexico: An Overview of Characteristics and Prognosis in an Open Reference Center for Low-Income

- Population. *J Neurosci Rural Pract.* 2018; 9(4): 516-521. doi: 10.4103/jnrp.jnrp_106_18.
10. Sanai N, Berger MS. Glioma extent of resection and its impact on patient outcome. *Neurosurgery.* 2008; 62:753-66.
 11. Guo X, Shi Y, Liu D, Li Y, Chen W, Wang Y, Wang Y, Xing H, Xia Y, Li J, Wu J, Liang T, Wang H, Liu Q, Jin S, Qu T, Guo S, Li H, Yang T, Zhang K, Wang Y, Ma W. Clinical updates on gliomas and implications of the 5th edition of the WHO classification of central nervous system tumors. *Front Oncol.* 2023 Mar 14;13:1131642. doi: 10.3389/fonc.2023.1131642.
 12. Finch A, Solomou G, Wykes V, Pohl U, Bardella C, Watts C. Advances in Research of Adult Gliomas. *Int J Mol Sci.* 2021 Jan 18;22(2):924. doi: 10.3390/ijms22020924.
 13. Rickman, D.S., Bobek, M.P., Misek, D.E., Kuick, R., Blaivas, M., Kurnit, D.M., et al. Distinctive molecular profiles of high-grade and low-grade gliomas based on oligonucleotide microarray analysis. *Cancer Res.* 2001; 61(18): 6885-91.
 14. Kreth, S., Heyn, J., Grau, S., Kretschmar, H.A., Egensperger, R., Kreth, F.W. Identification of valid endogenous control genes for determining gene expression in human glioma. *Neuro Oncol.* 2010; 12(6): 570-9. doi: 10.1093/neuonc/nop072.
 15. Brat, D.J., Aldape, K., Bridge, J.A., Canoll, P., Colman, H., Hameed, M.R., et al. Molecular biomarker testing for the diagnosis of diffuse gliomas. *Arch Pathol Lab Med.* 2022;146(5):547-74. doi: 10.5858/arpa.2021-0295-CP.
 16. Horbinski C, Ligon KL, Brastianos P, Huse JT, Venere M, Chang S, Buckner J, Cloughesy T, Jenkins RB, Giannini C, Stupp R, Nabors LB, Wen PY, Aldape KJ, Lukas RV, Galanis E, Eberhart CG, Brat DJ, Sarkaria JN. The medical necessity of advanced molecular testing in the diagnosis and treatment of brain tumor patients. *Neuro Oncol.* 2019 Dec 17;21(12):1498-1508. doi: 10.1093/neuonc/noz119.
 17. Franco-Hernández C, Martínez-Glez V, Rey JA. Biología molecular de los glioblastomas. *Neurocirugía.* 2007; 18:373-382.

18. Besharat, Z.M., Abballe, L., Cicconardi, F., Bhutkar, A., Grassi, L., Le Pera, L., et al. Foxm1 controls a pro-stemness microRNA network in neural stem cells. *Sci Rep.* 2018; 8(1): 3523. doi: 10.1038/s41598-018-21876-y.
19. Laoukili, J., Kooistra, M.R., Brás, A., Kauw, J., Kerkhoven, R.M., Morrison, A., Clevers, H., et al. FoxM1 is required for execution of the mitotic programme and chromosome stability. *Nat Cell Biol.* 2005; 7(2): 126-36. doi: 10.1038/ncb1217.
20. Pilarsky, C., Wenzig, M., Specht, T., Saeger, H.D., Grützmann, R.. Identification and validation of commonly overexpressed genes in solid tumors by comparison of microarray data. *Neoplasia* 2004; 6(6): 744-750. doi: 10.1593/neo.04277.
21. Liu, M., Dai, B., Kang, S.H., Ban, K., Huang, F.J., Lang, F.F., Aldape, K.D., et al. FoxM1B is overexpressed in human glioblastomas and critically regulates the tumorigenicity of glioma cells. *Cancer Res.* 2006; 66(7): 3593-3602. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-05-2912.
22. Online PubMed Gene, *FOXM1* – forkhead box M1, Homo sapiens (human). Review in NM_021953.4, NM_202002.3, NM_202003.3, NM_001243088.2 and NM_001243089.2.
23. Van den Boom, J., Wolter, M., Kuick, R., Misek, D.E., Youkilis, A.S., Wechsler, D.S., Sommer, C., et al. Characterization of gene expression profiles associated with glioma progression using oligonucleotide-based microarray analysis and real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. *Am J Pathol.* 2003; 163(3): 1033-43. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63463-3.
24. Online PubMed Gene, *IPO8* – importin 8, Homo sapiens (human). Review in NM_006390.4.
25. Pfaffl, M.W., Horgan, G.W., Dempfle, L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Res.* 2002; 30(9): e36. doi: 10.1093/nar/30.9.e36.
26. Online PubMed Gene, *LRRC47* – leucine rich repeat containing 47, *Homo sapiens* (human). Review in NC_000001.11.

27. Online PubMed Gene, *SOAT* – sterol O-acyltransferase 1, *Homo sapiens* (human). Review in NC_000001.11.
28. Online PubMed Gene, *MAN2B1* – mannosidase alpha class 2B member 1, *Homo sapiens* (human). Review in NC_000019.10.
29. Online PubMed Gene, *SYNGR4* – synaptogyrin 4, *Homo sapiens* (human). Review in NC_000019.10.
30. Online PubMed Gene, *IDH1* – isocitrate dehydrogenase (NADP(+)) 1, *Homo sapiens* (human). Review in NG_023319.2.
31. Online PubMed Gene, *IDH2* – isocitrate dehydrogenase (NADP(+)) 2, *Homo sapiens* (human). Review in NG_023302.1.
32. Balss, J., Meyer, J., Mueller, W., Korshunov, A., Hartmann, C., von Deimling, A. Analysis of the IDH1 codon 132 mutation in brain tumors. *Acta Neuropathol.* 2008; 116(6): 597-602. doi: 10.1007/s00401-008-0455-2.
33. Cattoretti, G., Becker, M.H., Key, G., Duchrow, M., Schlüter, C., Galle, J., et al. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol.* 1992; 168(4):3 57-63. doi: 10.1002/path.1711680404.
34. Remnant, L., Kochanova, N.Y., Reid, C., Cisneros-Soberanis, F., Earnshaw, W.C. The intrinsically disorderly story of Ki-67. *Open Biol.* 2021; 11(8):210120. doi: 10.1098/rsob.210120.
35. Johannessen, A.L., Torp, S.H. The clinical value of Ki-67/MIB-1 labeling index in human astrocytomas. *Pathol Oncol Res.* 2006; 12(3): 143-7. doi: 10.1007/BF02893360.
36. Hsu, C.Y., Ho, D.M., Yang, C.F., Chiang, H. Interobserver reproducibility of MIB-1 labeling index in astrocytic tumors using different counting methods. *Mod Pathol.* 2003; 16(9): 951-7. doi: 10.1097/01.MP.0000084631.
37. Nielsen, L.A.G., Bangsø, J.A., Lindahl, K.H., Dahlrot, R.H., Hjelmberg, J.V.B., Hansen, S., et al. Evaluation of the proliferation marker Ki-67 in gliomas:

Interobserver variability and digital quantification. *Diagn Pathol.* 2018; 13(1): 38. doi: 10.1186/s13000-018-0711-2.

38. Chan, D.W., Yu, S.Y., Chiu, P.M., Yao, K.M., Liu, V.W., Cheung, A.N., et al. Over-expression of FOXM1 transcription factor is associated with cervical cancer progression and pathogenesis. *J Pathol.* 2008; 215(3): 245-52. doi: 10.1002/path.2355.
39. Chen, H., Yu, Y., Yang, M., Huang, H., Ma, S., Hu, J., et al. YTHDF1 promotes breast cancer progression by facilitating FOXM1 translation in an m6A-dependent manner. *Cell Biosci.* 2022; 12(1): 19. doi: 10.1186/s13578-022-00759-w.
40. Liu, J., Li, J., Wang, K., Liu, H., Sun, J., Zhao, X., et al. Aberrantly high activation of a FoxM1-STMN1 axis contributes to progression and tumorigenesis in FoxM1-driven cancers. *Signal Transduct Target Ther.* 2021; 6(1): 42. doi: 10.1038/s41392-020-00396-0.
41. Cheng, S.X., Tu, Y., Zhang, S. FoxM1 promotes glioma cells progression by up-regulating Anxa1 expression. *PLoS One.* 2013; 8(8): e72376. doi: 10.1371/journal.pone.0072376.