

## ❖ BIOLOGIA MOLECULAR EN GLIOMAS

### ***Recomendaciones a partir de la nueva clasificación OMS 2016 en tumores de cerebro.***

***D. M. Prost y J. I. Gómez Escalante. Unidad de Neuro-Oncología Instituto Ángel H. Roffo***

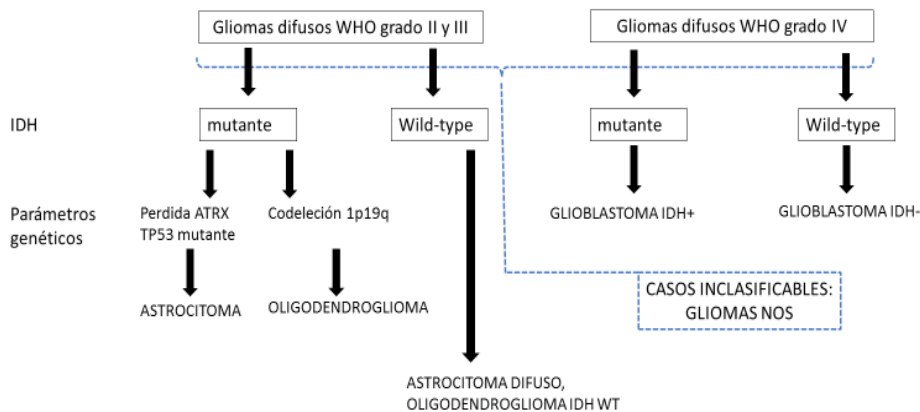
Los gliomas representan un porcentaje importante de los tumores primarios del SNC en la población adulta. En términos de incidencia, ocupan el segundo lugar luego de los meningiomas y el tercer lugar considerando las metástasis <sup>1</sup>. Al analizar datos epidemiológicos, se reconoce un aumento de la incidencia en los últimos años atribuible en parte a un mayor reporte de casos, al empleo de nuevos métodos diagnósticos en los estudios por imágenes y a los cambios en las conductas médicas frente a los pacientes de edad avanzada <sup>2,3</sup>.

La clasificación de estos tumores ha sufrido un cambio sustancial en los últimos años al incorporar parámetros moleculares e introducir de esta manera el concepto del diagnóstico integrado o “en capas” <sup>4, 5</sup>. Durante casi un siglo, la clasificación de los gliomas se basó en conceptos histogenéticos tradicionales descritos en los trabajos fundacionales de Santiago Ramón y Cajal y continuados por su discípulo Pío del Río Hortega. El primer intento serio de monografía clasificatoria es el clásico de Percival Bailey y Harvey Cushing <sup>6</sup>. A partir de entonces se publicaron clasificaciones pronósticas basadas en los parámetros morfológicos.

Los distintos avances tecnológicos y analíticos fueron incorporando nuevos criterios clasificatorios. En el Consenso de Haarlem del año 2014 <sup>7</sup> quedaron planteados los términos generales de la discusión de lo que ahora se conoce como diagnóstico “en capas”, que incluye la clasificación histológica, el grado de la OMS y la información molecular, todo esto expresado en un diagnóstico integrado <sup>8</sup>. En el año 2016, la OMS incorporó definitivamente estos conceptos y estableció de esta manera una nueva clasificación que rompe con la tradición centenaria basada en la histogénesis e incorpora parámetros moleculares bien establecidos que introducen categorías que dependen del genotipo <sup>9</sup>.

Este nuevo paradigma diagnóstico genera el desafío para los equipos de salud de establecer una colaboración entre distintos centros médicos para la centralización de muestras, el análisis por patólogos especializados en tumores de SNC y así lograr la máxima utilidad de los recursos.—

El eje molecular en torno al cual se reestructura esta clasificación es el estatus mutacional de la enzima IDH (isocitrato deshidrogenasa) en sus isoformas 1 y 2, la presencia o ausencia de la codelección 1p19q, la mutación del gen TP53 y la proteína ATRX.



### **Clasificación de los gliomas difusos a partir de su estado mutacional IDH**

La enzima IDH integra la familia de enzimas relacionadas con el metabolismo de la glucosa en el ciclo de los ácidos tricarbóxicos (ciclo de Krebs). Existen tres isoformas diferentes: IDH-1, de localización citoplasmática; IDH-2, de localización mitocondrial, ambas de relevancia en metabolismo y oncogénesis, e IDH-3, sin un rol establecido en el desarrollo tumoral. La descripción de la mutación de IDH en el año 2008 significó un cambio esencial en los conceptos patogénicos <sup>10</sup>.

Originalmente la IDH fue hallada en glioblastomas, pero los trabajos publicados posteriormente demostraron su mayor frecuencia en astrocitomas y oligodendrogliomas. A partir de entonces, las mutaciones de IDH-1 y su homólogo mitocondrial IDH-2 se convirtieron en los marcadores más importantes para este tipo tumoral. Mas del 90% de los gliomas pertenecientes a este grupo presentan la mutación del codón R132H de IDH-1. El porcentaje restante comprende las mutaciones restantes de IDH-1(R132C; R132L; R132S; R132G) e IDH-2 (R172H; R172G y R172K, por orden de frecuencia) <sup>11</sup>. Junto con la mutación de p53 definen el subtipo de los astrocitomas difusos y son esenciales para las consideraciones clasificatorias, a tal punto que la gradación morfológica tradicional de la OMS carece de impacto pronóstico si no se considera desde el inicio el estado de la mutación IDH <sup>12</sup>.

Hoy en día, el análisis de la IDH para tumores difusos es un estándar (sobre todo en astrocitomas y oligodendrogliomas). Los trabajos sobre oligodendrogliomas de Craincross y van den Bent<sup>13,14</sup> evidenciaron, de manera retrospectiva, que el subgrupo de pacientes con IDH mutada duplicaba la sobrevida con respecto a los no mutados, y aquellos que contaban además con la delección 1p19q presentaban un mayor beneficio luego del tratamiento radiante más quimioterapia con esquema PCV (OS IDW-wild type (wt) 1,3; IDH-mut 5,5; IDH-mut + codel1p19q 14,7 Años). Dicho beneficio también fue observado en la variable astrocitoma anaplásico donde el estatus de IDH significó un aumento de la sobrevida mediana en 7,2 vs 2,8 años entre mutados y wt respectivamente.

De todas estas alteraciones, la mutación IDH-1/2 es el evento más precoz en la génesis tumoral glial y el que mayor implicancia pronóstica exhibe <sup>15</sup>. Acorde con lo descrito, son tres los marcadores que constituyen el eje molecular mencionado: IDH-1/2; codeleción 1p19q y el estatus de p53. Los tumores con mutación IDH-1/2 exhiben codeleción 1p19q o mutación de TP53 en forma mutuamente excluyente.

De esta manera quedan delimitados tres grupos moleculares dentro del conjunto de gliomas supratentoriales difusos en adultos. Un primer grupo caracterizado por la mutación en IDH-1/2 y la codeleción 1p19q; un segundo grupo con idéntica mutación en IDH-1/2 pero sin codeleción 1p19q, y un tercer grupo con IDH-1/2 wt. El primer grupo es el de mejor pronóstico y está relacionado con el fenotipo oligodérmico tradicional. El segundo grupo, de peor pronóstico comparado con el anterior, exhibe una morfología variada de las tres estirpes clásicas (astrocítica, oligodérmica y mixta). El tercer grupo descrito es el de peor pronóstico. Es un grupo heterogéneo desde el punto de vista morfológico y molecular, más emparentado con el glioblastoma primario. De esta manera, aquellos gliomas de bajo grado histológico pertenecientes a este grupo tienen peor pronóstico que otras lesiones de mayor grado histológico pertenecientes a los otros dos grupos. Ante esta dicotomía molecular, el grupo de los gliomas mixtos queda reducido ya que carece de una firma molecular característica de oncotipo <sup>16</sup>.

La bibliografía describe los tratamientos multimodales, así como la conducta expectante y la observación para este grupo de pacientes. Los factores de riesgo como la edad mayor a los 40 años, localización parieto-temporal y la imposibilidad de una resección macroscópica completa han sido los principales criterios para indicar quimioradioterapia. De esta situación se desprenden los trabajos de la EORTC 22033 y Mayo Clinic<sup>17,18</sup>. El primero, que compara temozolamida y radioterapia vs temozolamida sin diferencias en la sobrevida, aunque sí en PFS, 4 vs 1,7 años entre IDH-mut y IDW-wt. El segundo, radioterapia con o sin esquema PCV (procarbazona, lomustina y vincristina), con aumento en la sobrevida 13,1 vs 5,1 años a favor de IDH-mut. Es el consejo de esta unidad analizar para la mutación IDH todo tumor dentro del espectro de los gliomas grado II y III, y tomar conductas en base a las decisiones con equipos multidisciplinarios.

Con respecto al glioblastoma y en relación con las alteraciones moleculares descritas, cabe mencionar que se han clasificado en dos grupos, aquellos que presentan la forma no mutada de IDH-1/2 (Glioblastoma, IDH- wt), y aquellos que sí (Glioblastoma, IDH- mut). El primer grupo da cuenta de más del 90% de todos los glioblastomas y se corresponde con los tipos primarios o “de novo”. Tienen un pronóstico ominoso y una sobrevida global de 18 meses con el tratamiento actual (cirugía, temozolamida y radioterapia). El segundo grupo en cambio corresponde al menor porcentaje de glioblastomas que surgen a partir de gliomas de bajo grado (tipo secundario) y que presentan un mejor pronóstico con respecto al anterior con una sobrevida global de 30 meses <sup>19</sup>.

La mutación de ATRX (*Alpha Thalassemia/ Mental Retardation Syndrome X-Linked*) completa el genotipo de este subtipo tumoral. ATRX está involucrada en el mantenimiento del telómero en un proceso conocido como alargamiento alternativo de los telómeros independiente de la acción de la telomerasa, que favorece la replicación celular. Es, al mismo tiempo, un marcador molecular útil para identificar el fenotipo astrocítico <sup>20</sup>.

A partir del análisis del estudio NOA-04 la pérdida de función en ATRX conlleva en un 60% la comutación de IDH lo que significó un aumento en la sensibilidad a la radioterapia y la quimioterapia con mayor supervivencia de los grupos oligodendroglioma, oligoastrocitomas y astrocitomas <sup>21</sup>

La pérdida del brazo corto del cromosoma 1 y del brazo largo del cromosoma 19 (codeleción 1p19q) es un biomarcador de importancia diagnóstica (está ligada al fenotipo oligodéndrico), pronóstica (identifica un subgrupo de mejor pronóstico) y predictiva (reconoce la sensibilidad a la quimioterapia y probablemente también a la radioterapia) <sup>22</sup>.

Consideramos que, junto con IDH, la codeleción 1p19q debería ser incluida en todo paciente bajo sospecha de oligodendroglioma. La presencia de ambas alteraciones es, con la clasificación del 2016, la única forma de diagnosticar un oligodendroglioma.

La enzima MGMT (Metil Guanina- Metil Transferasa) es una pieza clave en el mecanismo de reparación del ADN por agentes alquilantes. Alrededor del 50% de todos los glioblastomas presentan metilación del promotor del gen MGMT, lo que implica una disminución en la expresión de la enzima. Esto último se traduce en una mayor susceptibilidad de la célula tumoral a la acción alquilante de la temozolamida <sup>23</sup>. De todo lo expuesto, queda de manifiesto el cambio sustancial que ha sufrido la clasificación de los gliomas y la importancia que tiene en la práctica asistencial la incorporación de estos marcadores moleculares a la rutina del diagnóstico patológico.

En cuanto a los tumores gliales pediátricos, cobran importancia la MAPK BRAF y las mutaciones de la histona H3. Consideramos que ante el diagnóstico es importante concurrir a centros especializados en patología pediátrica. A modo descriptivo podemos decir que la fusión *KIAA1549: BRAF* es característica de los astrocitomas pilocíticos en un rango del 50 al 90% de los casos, constituyendo un importante marcador diagnóstico en casos de morfología compleja. La otra alteración que compromete a BRAF es la mutación puntual del aminoácido valina a glutamato en la posición 600 (BRAF V600E), lo que la convierte en una quinasa activa en forma constitutiva. Su incidencia es del 66,7 % en los xantastrocitomas pleomorfos y, en menor frecuencia, en astrocitomas pilocíticos extracerebelosos y gangliogliomas. Las alteraciones mencionadas en BRAF (fusión y mutación puntual) suelen ser mutuamente excluyentes. La mutación BRAF V600E también ha sido descrita en un 5% de los glioblastomas y hasta en un 50% de la recientemente incorporada variedad epitelioide, subtipo que ocurre de manera preferencial en niños y adultos jóvenes. Consideramos que su estudio, en adultos, debe limitarse a aquellos gliomas de bajo grado IDH wt para confirmar un xantastrocitoma. Preferimos reservar el análisis de BRAF en gliomas de alto grado (glioblastoma, gliomas anaplásicos etc.) para la esfera investigacional y no la actividad diaria de consultorio. Por último, cabe comentar las mutaciones en los genes que codifican las proteínas histonas <sup>26</sup>. Destaca entre ellas la mutación somática heterocigótica del gen que codifica la proteína histona H3, relacionada con el desarrollo de glioblastomas pediátricos extratrocanales (hasta el 44% en algunas series) y gliomas difusos intrínsecos de tronco (hasta el 78%). Existen dos mutaciones conocidas en el gen H3; H3.3 y H3.1, resultantes de la sustitución de aminoácidos en la posición 27 (K27M) y en la posición 34 (G34R; G34V) respectivamente. La mayoría de los tumores con la mutación H3K27M se encuentran

en la línea media (tronco del encéfalo o tálamo), mientras que aquéllos que presentan mutación en H3G34R/V, exhiben predilección por la corteza. Las mutaciones en H3 parecen ser características de los gliomas pediátricos de alto grado con una alta prevalencia y discriminación entre subtipos topográficos (asociación entre localización anatómica y genética lesional establecida). Aquellos pacientes con la mutación H3K27M parecen tener, según algunos estudios, peor sobrevida que aquellos con la mutación H3G34R/V <sup>27</sup>. De esta manera, queda claro que el grupo de gliomas pediátricos no escapa a los cambios sustanciales aportados por la firma molecular y se redefinen, así como entidades con la posibilidad inédita de un acceso terapéutico específico.

***De todo lo expuesto, queda de manifiesto el cambio sustancial que ha sufrido la clasificación de los gliomas y la importancia que tiene en la práctica asistencial la incorporación de estos marcadores moleculares a la rutina del diagnóstico patológico.***

### ***Bibliografía***

1. Lang F.F. y col. Metastatic Brain Tumors. En: H. Richard Winn; Youmans Neurological Surgery (6° ed.) Philadelphia; Elsevier, 2011.
2. Davis F G. Prevalence estimate for primary brain tumors in USA by behavior and mayor histology groups. Neuro-Oncology; 3: 152-8, 2001
3. Wrensch M. Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature. Neuro-oncology 4 (4): 278-99. 2002
4. Toward Precision Medicine: Building a knowledge network for biomedical research and a new taxonomy of disease. Washington D.C: The National Academies Press, 2011.
5. Louis DN, Perry A, Burger P, et al. International Society of Neuropathology- Haarlem Consensus Guidelines for Nervous System Tumor Classification and Grading, Brain Pathology. 24 (5): 429-35. 2014
6. Bailey P, Cushing H. A Classification of the Tumors of the Glioma Group on a Histogenetic Basis with a Correlated Study of Prognosis. Philadelphia: JB Lippincott Co 175. 1926
7. Johannes Hainfellner. International Society of Neuropathology- Haarlem Consensus Guidelines for Nervous System Tumors Classification and Grading, Brain Pathology. 24: 671-2. 2014.
8. Louis DN, Perry A, Burger P, et al. International Society of Neuropathology- Haarlem Consensus Guidelines for Nervous System Tumor Classification and Grading, Brain Pathology 24 (5): 429-35. 2014.
9. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System. Acta Neuropathol 131: 803-820, 2016.
10. Hai Yan, M.D., Ph.D., D. Williams Parsons, M.D., Ph.D., Genglin Jin, Ph.D., Roger McLendon, M.D., B. Ahmed Rasheed, Ph.D., Weishi Yuan, Ph.D., Ivan Kos, Ph.D., Ines Batinic-Haberle, Ph.D., Siân Jones, Ph.D., Gregory J. Riggins, M.D., Ph.D., Henry Friedman, M.D., Allan Friedman, M.D., et al. IDH1 and IDH2 Mutations in Gliomas. N Engl J Med. 360: 765-73, 2009.

11. Reuss DE, Mamatjan Y, Schrimpf D, et al. IDH mutant diffuse and anaplastic astrocytomas have similar age at presentation and little difference in survival: a grading problem for WHO. *Acta Neuropathol* 129 (6): 867-73. 2015.
12. Ichimura K, Narita Y, Hawkins CE. Diffusely infiltrating astrocytomas : pathology, molecular mechanisms and markers. *Acta Neuropathol* 129 (6): 789-808. 2015.
13. Adjuvant procarbazine, lomustine and vincristine improves progression-free survival but not overall survival in newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas: a randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer phase III trial. Van der Bent. *J Clin Oncol.* 20;24(18):2715-22. 2006
14. Cairncross JG. Benefit from procarbazine, lomustine, and vincristine in oligodendroglial tumors is associated with mutation of IDH. *J Clin Oncol.* 10;32(8):783-90. 2014
15. Reuss DE, Mamatjan, Sahm F, Schrimpf D, et al. ATRX and IDH1-R132H immunohistochemistry with subsequent copy number analysis and IDH sequencing as a basis for an integrated diagnostic approach for adult astrocytoma, oligodendroglioma and glioblastoma. *Acta Neuropathol* 129 (1): 133-46. 2015