



Alteraciones cromosómicas y supervivencia en pacientes con astrocitomas

Enrique López-Aguilar,^a Ana Rioscovian-Soto,^a Yadira Betanzos-Cabrera,^a Ruth Ruiz-Esparza,^b Ana Carolina Sepúlveda-Vildósola^c

Chromosomal imbalances and survival in patients with astrocytomas

Background: Cytogenetics has revealed that the development of brain tumors might be induced by molecular alterations. The association of chromosomal imbalances with survival will allow for the prognosis and treatment of these tumors to be assessed. The objective of this study was to determine chromosomal imbalances and overall and disease-free survival in pediatric patients with astrocytoma and the association between chromosomal imbalances and survival.

Methods: Medical charts of patients diagnosed with astrocytoma according to records from 1995 to 2005 were reviewed. Paraffin blocks were retrieved in order to extract tumor material and a comparative genomic hybridization technique was used to search for chromosomal gains and losses.

Results: Out of 35 patients, 31 had at least some alteration in chromosomes 1, 5, 9 or 18, the latter with gains or losses in 65.7 % of the patients. By histology, 7/9 pilocytic astrocytomas had alteration of chromosome 9, and in 5/6 anaplastic astrocytomas, of chromosome 18. Patients with alterations in these chromosomes had a worse survival.

Conclusions: The results of this study suggest that there is an association between the anaplastic histology and chromosome 18 alterations, as well as between diffuse astrocytoma and alterations in chromosome 5, which could be relevant in the Latin American population.

Keywords	Palabras clave
Astrocytoma	Astrocitoma
Survival	Supervivencia
Chromosomes	Cromosomas
Cytogenetics	Citogenética

Recibido: 03/09/2013

Aceptado: 07/04/2014

Los tumores cerebrales son los tumores sólidos más frecuentes en la edad pediátrica; su incidencia mundial al año oscila entre 10 y 18 casos por millón y su frecuencia es de 12 %.¹ Los más comunes son los derivados de la glia (60 %); de ellos, los astrocitomas representan 50 %.² De acuerdo con la Surveillance, Epidemiology, End Result, la expectativa de vida a los cinco años es de 56 %. Los pacientes con astrocitomas de bajo grado y en fosa posterior son los de mejor pronóstico; los que tienen el peor pronóstico son aquellos con glioma del tallo e histología de alto grado.³

Si bien el conocimiento de los factores pronóstico permite adecuar el tratamiento, aún existe un grupo de pacientes con factores favorables que evolucionan en forma tórpida, por lo que es importante profundizar en los factores que pueden derivar en un peor pronóstico.

Los factores de mal pronóstico ya conocidos son edad menor de tres años (ya que no se puede ofrecer radioterapia), la localización y la histología del tumor. Se han estudiado factores genéticos dado que se ha observado que la transformación maligna de gliomas es el resultado de una suma de aberraciones genéticas y desregulación de las señales de factores de crecimiento.⁴

La citogenética aplicada a los tumores cerebrales ha revelado que alteraciones moleculares a ese nivel pueden inducir el desarrollo o progresión del mismo.

En los ependimomas, las alteraciones en las copias cromosómicas incluyen los cromosomas 1, 6, 7, 9, 10, 13, 17, 19 y 22. Las delecciones son las más comunes, con pérdidas en el cromosoma 22. Se ha demostrado que la pérdida alélica del cromosoma 22q es significativamente más frecuente en los adultos que en los pacientes pediátricos, y que en estos son más comunes los ependimomas localizados en el neuroeje. Otros estudios demuestran que la pérdida del cromosoma 22 puede estar relacionada con el subgrupo de ependimomas caracterizados por su proliferación baja. Estos hallazgos han sido confirmados por investigaciones de genética molecular que han identificado pérdidas en los cromosomas 6q, 9p, 10, 11q, 13q, 17p y 19q. Los ependimomas originados en la fosa posterior presentan delecciones en los cromosomas 6q y 9p y se encuentran relacionados con un porcentaje de supervivencia a cinco años de solo 50 %. En México se demostró la alteración

^aServicio de Oncología

^bServicio de Genética

^cDirección de Educación e Investigación en Salud

Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, Distrito Federal, México

Comunicación con: Javier Enrique López-Aguilar

Teléfono: (55) 5627 6900, extensión 22499

Correo electrónico: onco_lab@yahoo.com.mx

Introducción: la citogenética ha revelado que el desarrollo de los tumores cerebrales pudiera estar inducido por alteraciones moleculares. La asociación de las alteraciones cromosómicas con la supervivencia permitirá valorar el pronóstico y tratamiento de estos tumores. El objetivo de este estudio fue determinar las alteraciones cromosómicas, la supervivencia global y libre de enfermedad en pacientes pediátricos con astrocitomas, y la asociación entre ellas.

Métodos: se revisaron los expedientes clínicos de los pacientes con diagnóstico de astrocitoma de acuerdo con los registros de 1995 a 2005. Se buscaron los bloques de parafina para extraer el material tumoral y se realizó técnica de hibridación genómica comparativa para buscar ganancias y pérdidas cromosómicas.

Resultados: de 35 pacientes, 31 presentaron al menos alguna alteración en los cromosomas 1, 5, 9 o 18, este último presentó ganancias o pérdidas en 65.7 % de los pacientes. Al analizarlas según la estirpe histológica de los tumores, en 7/9 astrocitomas pilocíticos se observó alteración del cromosoma 9, y en 5/6 astrocitomas anaplásicos, del cromosoma 18. Los pacientes con alteraciones en estos cromosomas tuvieron una menor supervivencia.

Conclusiones: los resultados de este estudio sugieren que existe asociación entre la histología anaplásica y las alteraciones del cromosoma 18, así como entre el astrocitoma difuso y las alteraciones en el cromosoma 5, lo cual podría ser relevante en la población latinoamericana.

Resumen

cromosómica repetida de 1q12, la cual influye en la supervivencia en forma significativa (50 % comparado con 66 %, 40 % comparado con 50 % y 0 % comparado con 30 % a 1.5 y 10 años). Llama la atención que los resultados no coinciden con los de la literatura y son secundarios a que el comportamiento de esta patología es diferente en nuestra población.⁵ Los adultos con astrocitomas de bajo grado presentan cambios como trisomía 7 o pérdida de un cromosoma sexual. En pacientes con glioblastoma se ha reportado pérdida de 9p, monosomía de 10, delección en 22q y numerosas delecciones en los cromosomas 16p y 10p.⁶

Se ha observado que la evolución de los astrocitomas es diferente en los adultos y en la población pediátrica.⁷ Las alteraciones +1q, relacionada con menor supervivencia en astrocitomas anaplásicos, y +5q, -6q, -11q y 16q no se presentan en los adultos.⁸

En 1993, Newmann⁹ observó alteraciones estructurales y numéricas en astrocitomas de alto grado en niños. En 1995, Moscatello *et al.*¹⁰ demostraron amplificaciones génicas en los cromosomas 2, 8 y 12 en astrocitomas de alto grado. En 1999, Ward *et al.*¹¹ señalaron que los cambios estructurales en los cromosomas 1, 7, 9 y 17 fueron los más frecuentes. También se ha demostrado delección en 17p y mutación de p53 en astrocitomas de alto grado. En 2007, al estudiar a pacientes pediátricos, se identificaron alteraciones de p53 y amplificaciones de *PTEN* y *EGRF* en los pacientes con astrocitomas de alto grado.¹²

A pesar de las múltiples investigaciones, no se ha realizado una correlación entre clínica, genética molecular e histología para valorar el pronóstico y tratamiento de estos tumores.

La hibridación genómica comparativa es una técnica con la que se detectan alteraciones como amplificaciones y pérdidas de material genómico. Consiste en hibridar simultáneamente ADN de tejido tumoral y no tumoral marcado con fluoróforo rojo y verde, respectivamente, en laminillas con cromosomas en metafase;

se puede realizar en tejido fresco y en tejido incluido en parafina. Permite interpretar los cariotipos completos de los tumores y, si bien no proporciona información cuantitativa de las mutaciones de genes específicos, se pueden visualizar las regiones cromosómicas emparentadas con genes relacionados con las neoplasias.¹³

En 2010, Holland *et al.*¹⁴ realizaron un metaanálisis en el que informaron las alteraciones cromosómicas en pacientes adultos con astrocitomas y su asociación con la histología: 50 % de los astrocitomas se asoció con alteraciones cromosómicas; en los de bajo grado, las más frecuentes fueron ganancias de 7p y pérdida de un cro-

Cuadro I Características generales de pacientes pediátricos con astrocitomas

Número de alteraciones	Media	11.09	
	Mediana ± DE	10 ± 4.17	
Edad (años)	Media	6.39	<i>p</i> = 0.98
	Mediana ± DE	5 ± 3.95	
Supervivencia	Media	53.61	
	Mediana ± DE	37 ± 48.077	<i>p</i> = 0.218
	<i>n</i>	%	
Sexo	Femenino	19	54.3
	Masculino	16	45.7
Estado actual	Vivo	22	62.9
	Defunción	13	37.1
Grado	1	9	25.7
	2	20	57.1
	3	6	17.1
Localización	Supratentorial	12	34.3
	Infratentorial	15	42.9
	Tallo cerebral	7	20
Cirugía	Biopsia	5	14
	Parcial	21	60
	Total	9	26

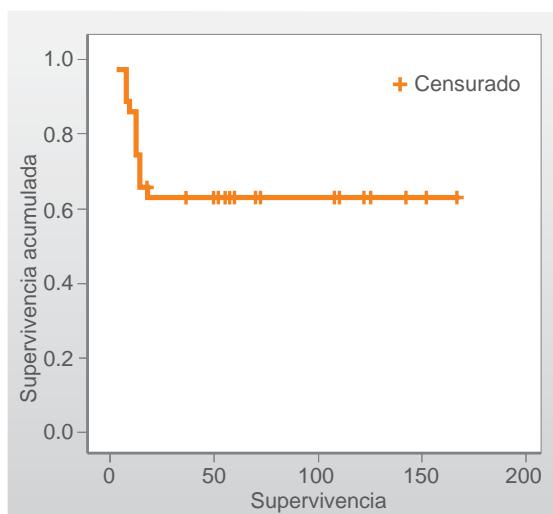


Figura 1 Supervivencia global de pacientes pediátricos con astrocitomas

mosoma X; en los de alto grado, ganancias de los cromosomas 7, 19 y 20 y pérdida de 10 y 13.

En Reino Unido se realizó un estudio de hibridación genómica comparativa en pacientes pediátricos con astrocitoma: 29 % de los pacientes tenía alguna alteración cromosómica y las aberraciones más frecuentes fueron en los cromosomas 6, 2 y 7 y las pérdidas en 16 y 12.

En Alemania, por hibridación genómica comparativa, Schröck¹⁵ estudió las alteraciones cromosómicas en pacientes con astrocitomas: la pérdida del cromosoma 7 fue más frecuente en los de bajo grado en cerebro.

En 2011, Barrow *et al.*¹⁶ reportaron las alteraciones cromosómicas por hibridación genómica comparativa en 38 pacientes pediátricos, en 13 eran tumores de tallo cerebral y el resto, astrocitomas de alto grado; en los primeros se identificaron delecciones en 17p y 14q.

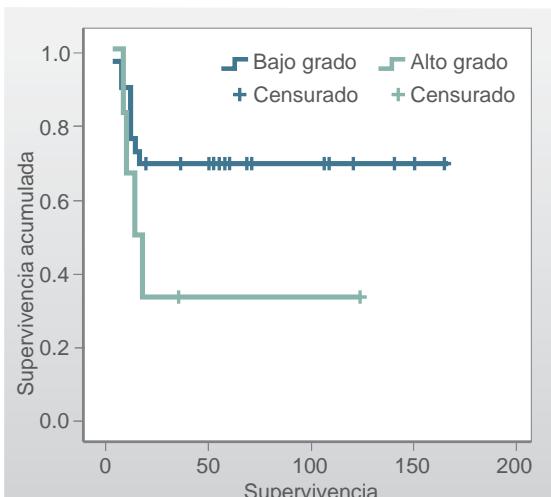


Figura 2 Supervivencia conforme el grado histológico en pacientes pediátricos con astrocitomas

El conocimiento de la patogénesis de los tumores astrocíticos en pediatría tiene una importancia significativa respecto a los factores pronóstico y los mejores esquemas terapéuticos.

Los objetivos de este trabajo fueron determinar la frecuencia de las alteraciones cromosómicas en pacientes pediátricos con diagnóstico de astrocitoma y si en ellos existe relación entre las alteraciones cromosómicas y la supervivencia.

Métodos

Se incluyeron todos los pacientes menores de 17 años de edad diagnosticados histopatológicamente con astrocitoma por el Servicio de Patología del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, entre enero de 1995 y diciembre de 2005. Se revisaron los expedientes clínicos para obtener los siguientes datos: edad, sexo, localización, grado y tipo de cirugía. Se excluyeron del estudio los pacientes sin muestras del tumor en bloque de parafina. Se analizaron las muestras al momento del diagnóstico, el cual fue confirmado por el patólogo.

Se realizó hibridación genómica comparativa: los ADN aislados del tumor y de células no tumorales se marcaron por separado con fluoróforos diferentes, isotiosanato de fluoresceína y rojo Texas, utilizando la técnica de *nick traslation* y citogenética molecular para producir sondas. Los ADN marcados se hibridaron en conjunto y a concentraciones equimolares a cromosomas en metafase, obtenidos de un individuo sin cáncer. Con un programa de bioinformática se identificaron pérdidas o ganancias de las regiones genómicas en el ADN del tumor respecto al tejido no tumoral.

Se analizó la supervivencia global mediante el método de Kaplan-Meier y se determinaron las diferencias estadísticas por el método de *log-rank* según los distintos factores pronóstico.

Resultados

Se analizaron 40 pacientes, de los cuales se excluyeron tres por no contar con los datos necesarios en el expediente y dos por muestra insuficiente de tejido para realizar la técnica de inmunohistoquímica. Al final, el universo de estudio quedó integrado por los resultados de 35 pacientes.

La mediana de edad en los pacientes estudiados fue de cinco años, con un rango de uno a 16 años. La razón hombre:mujer fue de 0.9:1 (18 hombres y 20 mujeres).

En cuanto a la estirpe histológica, 29 pacientes (82.9 %) tuvieron astrocitomas de bajo grado: nueve (25.7 %) astrocitoma pilocítico y 20 (57.1 %) astro-

citoma difuso; y seis (17.1 %), astrocitomas de alto grado (astrocitomas anaplásicos). Por su localización, en 15 (42.9 %) fueron infratentoriales, en 12 (34.3 %) supratentoriales y en siete (20 %) en tallo cerebral. A cinco pacientes (14.3 %) se les realizó biopsia, a 21 (60 %) resección parcial y a nueve (25.7 %), resección total. Respecto al estado al momento del informe, 22 pacientes estaban vivos (62.9 %) y 13 (37.1 %) habían fallecido (cuadro I).

A cinco años, con el método de Kaplan-Meier la supervivencia global pronosticada fue de 62.9 % (figura 1), de 62.5 % en el sexo femenino y de 63.2 % en el masculino ($p = 0.87$). Según la estirpe histológica de los tumores, la supervivencia a cinco años fue de 66.7 % en los pacientes con astrocitoma pilocítico, de 70 % en los pacientes con astrocitoma difuso y de 33.3 % en los pacientes con astrocitoma anaplásico ($p = 0.25$). Por bajo y alto grado, la supervivencia a cinco años fue de 69 y 33. %, respectivamente ($p = 0.483$).

En cuanto a la localización, la supervivencia global de los pacientes a cinco años fue de 58.3 % en aquellos con astrocitoma supratentorial, de 66.7 % con infratentorial y de 57.1 % con astrocitoma de tallo cerebral ($p = 0.86$ %).

De acuerdo con el tipo de cirugía, la supervivencia a cinco años fue de 20 % en los pacientes a quienes se les realizó biopsia, de 76.2 % en los que se efectuó resección parcial y de 55.6 % en los que se llevó a cabo resección total ($p = 0.0036$).

Mediante hibridación genómica comparativa se encontró que 31 pacientes (88.57 %) presentaron alguna alteración en los cromosomas 1, 5, 9 y 18. La alteración del cromosoma 18 (ganancia o pérdida) se presentó en 23 pacientes (65.7 %); 17 presentaron alteraciones en el cromosoma 5 (48.5 %), 15 en el cromosoma 1 y 14 en el cromosoma 9. De los nueve pacientes con astrocitomas fibrilares, siete tuvieron alteración en el cromosoma 5 y de los seis con astrocitomas anaplásicos, cinco en el cromosoma 18. Las alteraciones cromosómicas de acuerdo con el grado histológico se muestran en la figura 2.

La supervivencia de acuerdo con la alteración del cromosoma 1 fue de 72.2 % en los pacientes que no presentaron alteración comparado con 52.9 % en quienes la presentaron. La supervivencia en los pacientes con alteración del cromosoma 5 fue de 61.5 % comparado con 59 %. Con alteración del cromosoma 18 fue de 62 % comparado con 58.3 %. Sin embargo, no hubo diferencia estadísticamente significativa.

La media de alteraciones cromosómicas fue de 11, por lo que se realizaron curvas de supervivencia para los pacientes con 12 o más alteraciones cromosómicas. La supervivencia fue de 60 % comparado con 70 % de quienes presentaron menos de 11 (figura 3).

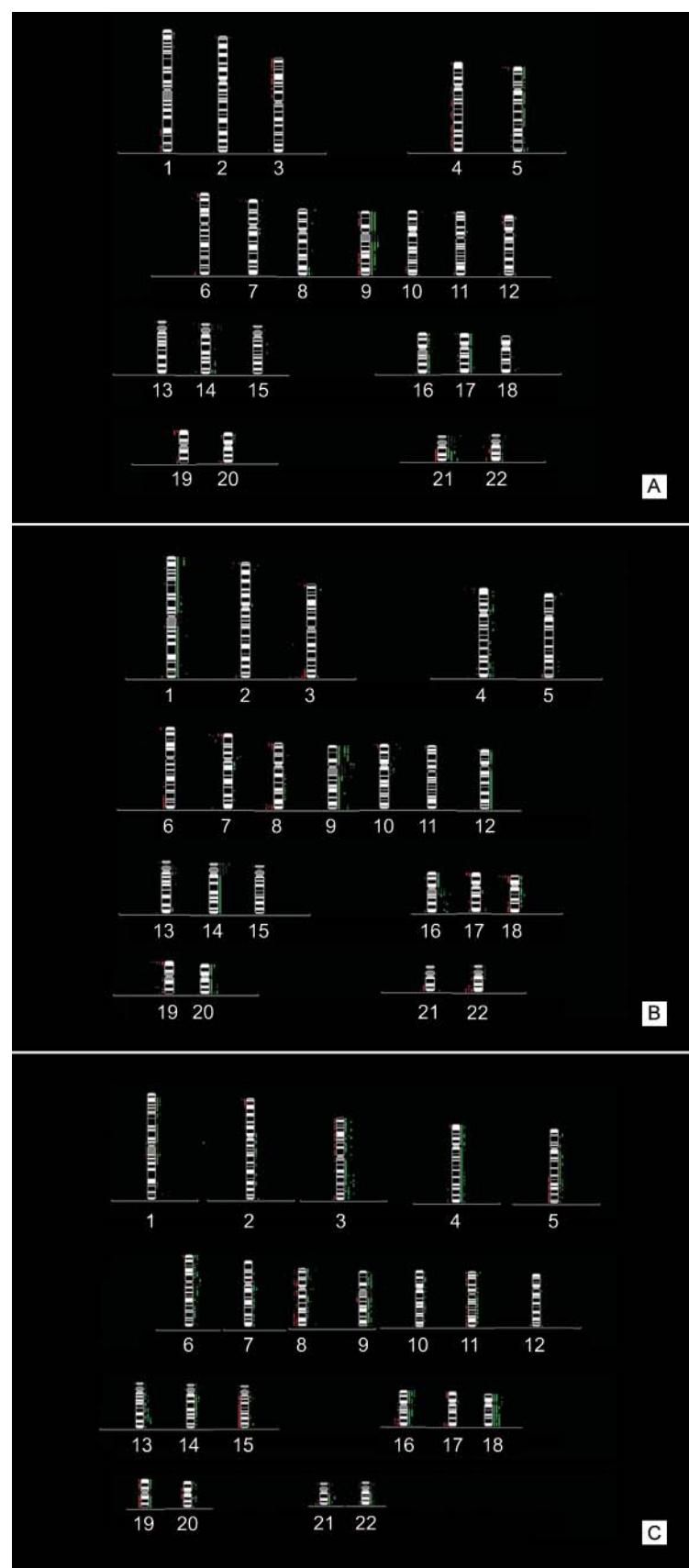


Figura 3 Resumen de alteraciones cromosómicas en pacientes pediátricos con diagnóstico de astrocitoma. A) Astrocitomas pilocíticos. B) Astrocitomas difusos. C) Astrocitomas anaplásicos. En verde las ganancias y en rojo las pérdidas cromosómicas

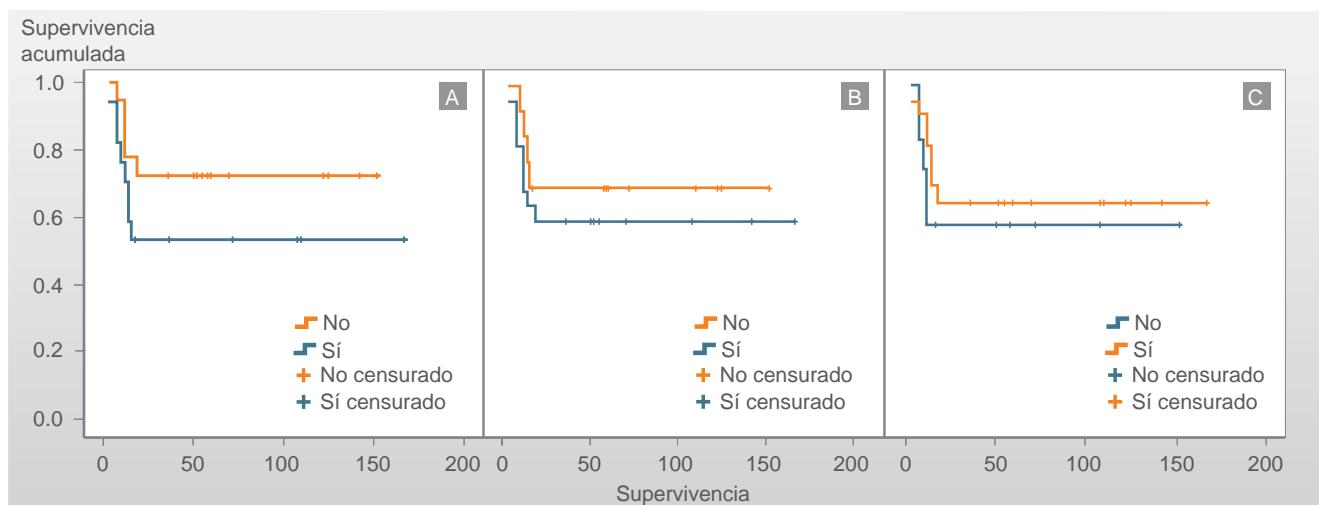


Figura 4 Supervivencia de pacientes pediátricos con diagnóstico de astrocitoma, de acuerdo con la alteración de cromosomas específicos
A) Cromosoma 1. B) Cromosoma 5. C) Cromosoma 18

Discusión

La supervivencia de los pacientes con diagnóstico de tumor del sistema nervioso central, en especial de aquellos con astrocitoma, ha mejorado en los últimos años debido a los avances en el tratamiento. Cada vez es más importante identificar los factores pronóstico de cada paciente para integrar un esquema terapéutico dirigido.

Las alteraciones cromosómicas en pacientes con astrocitomas han sido poco estudiadas, sobre todo en los pacientes pediátricos. En nuestra serie, las alteraciones cromosómicas más encontradas fueron en los cromosomas 1, 5, 9 y 18. Ward *et al.*,¹¹ al estudiar alteraciones cromosómicas mediante hibridación genómica comparativa, encontraron que los cromosomas 2, 6 y 7 fueron los más alterados; además, asociaron el número de alteraciones cromosómicas con la supervivencia: a mayor número de alteraciones cromosómicas, peor pronóstico. En el presente trabajo se observó que la mediana de alteraciones cromosómicas fue de 11 y que la supervivencia de los pacientes que presentaban más fue de 60 % comparado con 67 % de aquellos con menos alteraciones; aun cuando no hubo diferencia estadística, se observó significación clínica.

Cabe mencionar que el análisis citogenético mostró al menos una alteración cromosómica en 95 % de los pacientes, a diferencia de otros estudios en los que se observó hasta 71 % de alteraciones cromosómicas en el material tumoral. Hirose *et al.*¹⁷ encontraron alteraciones en 83 % de los pacientes con astrocitoma de bajo grado, con una media de dos alteraciones por caso, muy similar a lo que informamos en esta serie, sin embargo, estas ocurrieron en diferentes cromosomas.

Por otra parte, al realizar el análisis de las alteraciones cromosómicas de acuerdo con la estirpe histo-

lógica de los tumores, los pacientes con astrocitoma difuso presentaron ganancia del cromosoma 9 con más frecuencia. Todos los pacientes con astrocitoma anaplásico presentaron alteraciones en el cromosoma 18 (pérdidas o ganancias). Estos resultados coinciden con los de Webs, quien reportó que los xantastrocitomas pleomórficos presentan alteraciones del cromosoma 9. Por su parte, Jin *et al.*,¹⁸ en 63 pacientes pediátricos con alteraciones cromosómicas, encontraron que los pacientes con astrocitomas anaplásicos presentaban pérdidas en los cromosomas 4 y 10.

La supervivencia, como ya se mencionó, fue más alta en los pacientes que presentaban más de 11 alteraciones cromosómicas. Al analizar la supervivencia por cromosomas alterados no se encontraron diferencias estadísticamente significativas: los pacientes con alteraciones en los cromosomas 1 y 18 tuvieron una supervivencia menor que quienes no las presentaron (figura 4). Jin *et al.*¹⁸ también señalan que la ganancia del 1p se asocia con astrocitomas de bajo grado y que esta alteración podría contribuir a la patogénesis del tumor, sin embargo, no establecieron una asociación directa con la supervivencia.

Si bien en nuestra investigación no identificamos genes candidatos relacionados estadísticamente con la supervivencia de los pacientes, observamos que hubo relación clínica, por lo que consideramos importante buscar otros genes que pudieran contribuir con la evolución del paciente. Entre los cromosomas más afectados encontramos los siguientes:

- *Cromosoma 18*, en el que se encuentra la familia de los genes Bcl2, la cual controla la apoptosis, íntimamente relacionada con el proceso de carcinogénesis. Mediante estudios de proteómica se ha

demostrado que *Bcl2* es un factor pronóstico para los pacientes con astrocitoma.

- *Cromosoma 9*. Se ha identificado que los pacientes con xantoastrocitoma pleomórfico frecuentemente presentan delecciones en 9p, que incluye a los genes *PTCH* y *TSC1*. El primero un receptor transmembrana para la proteína de la vía de señalización de Hedgehog, importante en la inmortalización de la célula neoplásica. El *TSC1*, o proteína hamartina, ha sido relacionado con tumores de bajo grado en pacientes pediátricos.
- *Cromosoma 5*. Un gen candidato es *NAIP*, cuya proteína es inhibidora de la apoptosis neuronal.
- *Cromosoma 1*. La proteína *MAP3K* funciona como cinasa de señalización de la apoptosis y su alteración puede provocar persistencia de células neoplásicas y resistencia a la quimioterapia.

En este estudio encontramos que parece existir asociación entre la histología anaplásica y las alteraciones de los cromosomas 5 y 18 en los astrocitomas difusos, lo cual podría ser relevante en la población latinoamericana.

Si bien no existe un factor pronóstico biomolecular independiente que influya en la supervivencia de los pacientes con astrocitoma, la suma de los biomarcadores, alteraciones cromosómicas y cultivos celulares podría ayudar a elegir el tratamiento más adecuado en los pacientes con pronóstico adverso.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo.

Referencias

1. Fisher JL, Schwartzbaum JA, Wrensch M, Wiemels JL. Epidemiology of brain tumors. *Neurol Clin*. 2007; 25(4): 867-90, vii.
2. Cuevas-Urióstegui ML, Villasis-Keever MA, Fajardo-Gutiérrez A. Epidemiología del cáncer en adolescentes. *Salud Pública Mex*. 2003;45(Supl 1):115-23.
3. Dirección General de Epidemiología. Compendio del Registro Histopatológico de Neoplasias en México. Morbilidad, regionalización 1993-1996 y mortalidad. Tendencias 1985-1995, México: Secretaría de Salud; 1998.
4. Gutmann D, James CD, Poyhonen J, Louis DN, Ferner R, Guha A, et al. Molecular analysis of astrocytomas presenting after age 10 in individuals with NF1. *Neurology*. 2003;61(10):1397-400.
5. López-Aguilar E, Sepúlveda-Vildósola AC, Betanzos-Cabrera Y, Gascón-Lastiri G, Ortiz-Suárez L, Rivera-Márquez H, et al. Prognostic and survival factors among pediatric patients with ependymomas. *Gac Med Mex*. 2009;145(1):7-13.
6. Biegel JA. Cytogenetics and molecular genetics of childhood brain tumors. *Neuro-Oncology*. 1999;1(2):139-51.
7. Rickert CH, Sträter R, Kaatsch P, Wassmann H, Jürgens H, Dockhorn-Dworniczak B, et al. Pediatric high-grade astrocytomas show chromosomal imbalances distinct from adult cases. *Am J Pathol*. 2001;158(4):1525-32.
8. Shirahata M, Oba S, Iwao-Koizumi K, Saito S, Ueno N, Oda M, et al. Using gene expression profiling to identify a prognostic molecular spectrum in gliomas. *Cancer Sci*. 2009;100(1):165-172.
9. Neumann E, Kalousek DK, Norman MG, Steinbok P, Cochrane DD, Goddard K. Cytogenetic analysis of 109 pediatric central nervous system tumors. *Cancer Genet Cytogenet*. 1993;71(1):40-9.
10. Moscatello DK, Holgado-Madruga M, Godwin AK, Ramírez G, Gunn G, Zoltick PW, et al. Frequent expression of a mutant epidermal growth factor re-
- ceptor in multiple human tumors. *Cancer Res*. 1995; 55(23):5536-9.
11. Ward SJ, Karakoula K, Phipps KP, Harkness W, Hayward R, Thompson D, et al. Cytogenetic analysis of paediatric astrocytoma using comparative genomic hybridisation and fluorescence in-situ hybridisation. *J Neurooncol*. 2010;98(3):305-18.
12. Pollack IF, Hamilton RL, Finkelstein SD, Campbell JW, Martínez AJ, Sherwin RN, The relationship between TP53 mutations and overexpression of p53 and prognosis in malignant gliomas of childhood. *Cancer Res*. 1993;57(2):304-9.
13. Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Citro G, Sauter G, DeVries S, Kerschmann R, et al. Identification of gain and losses of DNA sequences in primary bladder cancer by comparative genomic hybridization. *Genes Chromosome Cancer*. 1995;12(3):213-9.
14. Holland H, Koschny T, Ahnert P, Meixensberger J, Koschny R. WHO grade-specific comparative genomic hybridization pattern of astrocytoma - a meta-analysis. *Pathol Res Pract*. 2010;206(10):663-6.
15. Schröck E, Thiel G, Lozanova T, du Manoir S, Meffert MC, Jauch A, et al. Comparative genomic hybridization of human malignant gliomas reveals multiple amplification sites and nonrandom chromosomal gains and losses. *Am J Pathol*. 1994;144(6):1203-18.
16. Barrow J, Adamowicz-Brice M, Cartmill M, MacArthur D, Lowe J, Robson K. Homozygous loss of ADAM3A revealed by genome-wide analysis of pediatric high-grade glioma and diffuse intrinsic pontine gliomas. *Neuro Oncol*. 2011;13(2):212-22.
17. Hirose Y, Aldape KD, Chang S, Lamborn K, Berger MS, Feuerstein BG. Grade II astrocytomas are subgrouped by chromosomal aberrations. *Cancer Genet Cytogenet*. 2003;142(1):1-7
18. Jin S, Sun C, Yu S, Wang Q, Wu W, Sun Y, Zhao W, An T. Chromosome DNA imbalances in human astrocytic tumors: A comparative genomic hybridization study of 63 Chinese patients. *Pathol Res Pract*. 2010;206(10):674-81.