

Biomarcadores moleculares implicados en la nueva clasificación de la Organización Mundial de la Salud en gliomas

Alberto González-Aguilar,* ** Alan Hernández Hernández,* Pamela Peiro-Osuna,*
Axayacatl Gutiérrez-Aceves,*** Ignacio Reyes-Moreno**

* Departamento de Urgencias. Clínica de Neurooncología. Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía (INNN).

** Centro Neurológico. The American British Cowdray.

*** Servicio de Radiocirugía del INNN.

RESUMEN

Tradicionalmente el sistema de clasificación para los tumores gliales de la Organización Mundial de la Salud (OMS) proporcionaba las bases para definir los tumores respecto a sus características histológicas. Obviamente, la clasificación clínica convencional presentaba limitaciones para diferenciar entidades y variantes tumorales, la nueva clasificación de la OMS para los tumores cerebrales ha incluido en su reciente revisión la aplicación de técnicas de biología molecular como herramienta diagnóstica. La detección de la codeleción 1p/19q, la secuenciación de la mutación del gen isocitrato deshidrogenasa 1 (IDH1) 132 y la determinación por inmunohistoquímica de anticuerpos monoclonales específicos contra la proteína R132 IDH1, la proteína TP53 y ATRX son las técnicas más representativas para el diagnóstico y clasificación de los gliomas. Adoptada en todo el mundo, es el resultado de un consenso satisfactorio que reúne criterios de clasificaciones histológicas, moleculares y pronósticas, convirtiéndose así en una herramienta poderosa que debe aplicarse de rutina en todos los centros.

Palabras clave: Glioma, isocitrato deshidrogenasa, codeleción 1p19q, isocitrato deshidrogenasa, ATRX, TP 53, metil- guanina-ADN-metiltransferasa.

ABSTRACT

Traditionally the classification system for glial tumors of the World Health Organization (WHO) provided the basis for defining tumors with respect to their histological characteristics. The new WHO classification for the classification of brain tumors has included in its recent review, the application of molecular biology techniques as a diagnostic tool. Detection of the 1p/19q codeletion, the sequencing of the isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) 132 gene mutation and the immunohistochemistry determination of specific monoclonal antibodies against the R132 IDH1 protein, the TP53 and ATRX proteins, are found as the most representative techniques for the diagnosis and classification of gliomas. Already adopted worldwide, it is the result of a satisfactory consensus that meets criteria of histological, molecular and prognostic classifications, thus becoming a powerful tool that should be applied routinely in all centers.

Key words: Glioma, isocitrate dehydrogenase, 1p19q codeletion, isocitrate dehydrogenase, ATRX, TP53, methyl guanine-DNA-methyl transferase.

INTRODUCCIÓN

Los gliomas son un grupo heterogéneo de neoplasias derivadas de células madre neurogliales.^{1,2} Dependiendo de su histología se clasifican en: astrocitomas, oligodendrogliomas y ependimomas; sin embargo, la combinación de oligoastrocitomas es altamente frecuente. La OMS propone un sistema para la clasificación de los gliomas en grados crecientes de malignidad (I-IV) tomando en cuenta número de mitosis, atipias, proliferación endovascular y necrosis.³ Esta clasificación presenta múltiples limitantes, no predice la respuesta

al tratamiento, no es pronóstica y la subjetividad de los parámetros que evalúa han mostrado en algunas series discordancia intra- e interobservador de hasta 50%. Gracias al avance en las técnicas de biología molecular y la comprensión de la biología de estos tumores, la OMS ha publicado la nueva clasificación donde la biología molecular es necesaria para catalogar los gliomas. Numerosas investigaciones confirman el valor pronóstico de alteraciones moleculares específicas. La clasificación facilita la comprensión de algunos puntos importantes para poder explicar a los pacientes con más claridad cómo el pronóstico, la respuesta al

tratamiento y algunos de estos marcadores favorecen el diagnóstico. Los marcadores que incluyen la nueva clasificación de la OMS en gliomas son la mutación en la isocitrato deshidrogenasa 1 (IDH1), la codeleción 1p19q (C1p19q), ATRX y p53.⁴ Este trabajo tiene como propósito presentar una panorámica sobre los biomarcadores involucrados en la nueva clasificación de la OMS y mostrar la importancia de estos marcadores, además de su participación en la génesis de los gliomas.

BIOMARCADORES IMPLICADOS EN LA NUEVA CLASIFICACIÓN DE LA OMS

Isocitrato deshidrogenasa

La IDH desempeña un papel en la neurooncología desde 2008, Parson realizó una secuencia de 20,661 genes codificadores de proteínas de 22 glioblastomas y detectó la presencia de mutaciones en el gen de la IDH en 12% de sus muestras. Todas las mutaciones estaban en la posición 395 (aminoácido 132), siendo la alteración más frecuente la sustitución G/A que modifica la transcripción de una arginina por una histidina. Una de las observaciones más relevantes de Parson fue que la mutación se presentaba en gente joven con glioblastoma secundario (transformación maligna de un glioma bien diferenciado) y que la

sobrevida de estos pacientes era más elevada que aquéllos que no la tenían.⁵ Estudios posteriores revelan que la mutación del gen IDH se encuentra en más de 77% en glioma grado II, en 55% de los gliomas grado III y en los glioblastomas en 6% y prácticamente está ausente en otros tipos de tumores⁶ con excepción de los hematológicos en 9%,⁷ pero recientemente se han reportado en colangiocarcinoma.⁸ Se conocen tres isoformas: IDH 1 (localizada en el citosol), su mutación más frecuente es la sustitución de una base 395G/A que sustituye una arginina por una histidina en el codón 132 (> 90%); la IDH 2 y 3 (formas mitocondriales), la IDH 2 es la segunda más común, consiste en que una base 515G/A sustituye una arginina por una histidina en el codón 172 (60%). La IDH es una proteína humana que tiene una longitud de 414 aminoácidos y se presenta en homodímeros y es responsable de catalizar la carboxilación oxidativa del isocitrato a α -cetoglutarato, produciendo oxalosuccinato como producto intermedio además de NADPH+ reducido (Figura 1).^{5,6,9,10}

La IDH, un oncometabolito involucrado en la gliomagénesis, facilita el crecimiento del tumoral en presencia de bajas concentraciones de oxígeno.

La participación de la mutación IDH se considera una mutación dominante negativa. Su relación con la carcinogénesis es la siguiente:

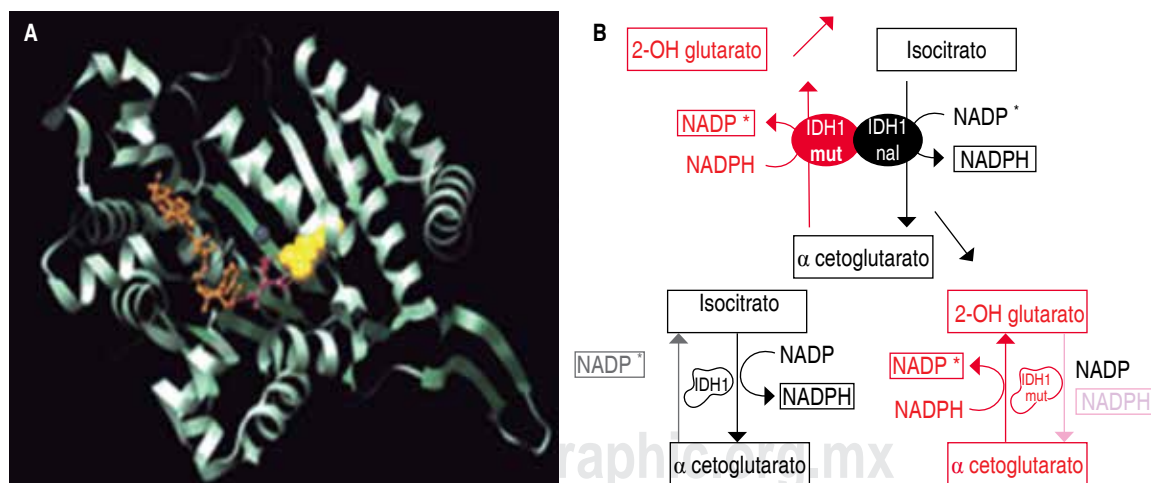


Figura 1. Alteraciones bioquímicas asociadas a la enzima IDH. **A.** Estructura tridimensional de la enzima cuya mutación del gen que la codifica se asocia a pronósticos favorables de los pacientes secundarios que presentan un patrón oligodendroglial. Las mutaciones en el gen que codifica para esta enzima que se observan de forma muy temprana en la gliomagénesis, predicen un resultado favorable en los pacientes con gliomas de alto grado. En el cuadro **B**, reacción que cataliza la IDH 1 para transformar la D-isocitrato a alfa-cetoglutarato. La expresión de la mutación de IDH 1 reduce la formación del alfa-cetoglutarato e incrementa los niveles del factor inducido por la hipoxia tipo 1. Obtenida de: Yan H, Parsons DW, Jin G, et al. Science. 2008. B. Modificada de: www.anocef.org/ensegment

1. Reducción de NADPH+, disminución de glutatión, pérdida de la protección del estrés oxidativo y susceptibilidad de las células a daño celular.⁸
2. La IDH mutante favorece la disminución de α -cetoglutarato y la formación de 2-hidroxioglutarato (2-HG), el cual participa en la activación de la histona deacetilasa, que participa en fenómenos de transcripción y represión del ciclo celular, en la integridad estructural del genoma, en la regulación positiva de la expresión de múltiples genes y en el desarrollo de alteraciones favoreciendo la codeleción 1p19q, la metilación MGMT y alteración del VEGF y p21 (genes con un papel bien establecido en la génesis de los gliomas).^{10,11}

IDH IMPACTO DIAGNÓSTICO

Camelo-Piragua investigó mediante inmunohistoquímica la presencia de IDH mutado y "wild type" en gliomas difusos versus gliosis reactiva y descubrió que 9/21 pacientes con glioma difuso eran positivos y 0/20 con gliosis reactiva eran positivos.¹² Otra situación de utilidad para distinguir gliomas grado I de II es la ausencia de la mutación de IDH en los grados I y su presencia en el resto de los gliomas (Figura 2).¹³

IDH 1 Y SUPERVIVENCIA

Desde la primera descripción, Parson demostró que la supervivencia global (SG) de los pacientes con GBM

(glioblastoma multiforme) era de 3.7 años para la forma mutada, contra 1.1 años para la forma no mutada o "wild type". Posteriormente todas las series han obtenido de forma consistente y reproducible los mismos resultados.⁵ Actualmente el terreno se amplió a todos los tipos de gliomas encontrando una OS de 65 versus 20 meses ($p < 0.001$) en astrocitomas y de 31 versus 15 meses ($p < 0.002$) en glioblastomas, con la presencia de la mutación IDH1/IDH2.¹⁴ El mecanismo por el cual estos tumores son de mejor pronóstico no es globalmente aceptado, pero se postula que puede existir la pérdida de NADPH+ con la consecuente disminución del glutatión y aumento de sensibilidad a quimioterapia y radioterapia, así como la probable asociación de la mutación y la codeleción 1p19q10. Labussière et al. en una serie de 764 gliomas detectaron la mutación IDH1 en 41% de los casos (315/764), agrupando los casos en función de su asociación a la codeleción 1p19q en verdadera, falsa e intacta. La codeleción 1p19q verdadera se encontró ligada a mutación IDH1 en 90%. La coexistencia de la codeleción 1p19q y la mutación IDH se asoció a mayor supervivencia en los gliomas grado II y III.¹¹ Sanson et al. en una serie de 404 pacientes con gliomas mostraron que la presencia de la mutación es un factor de buen pronóstico y que guardan una correlación inversa con la expresión del receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR) y la pérdida del cromosoma 10 (1 y 4% respectivamente).⁶

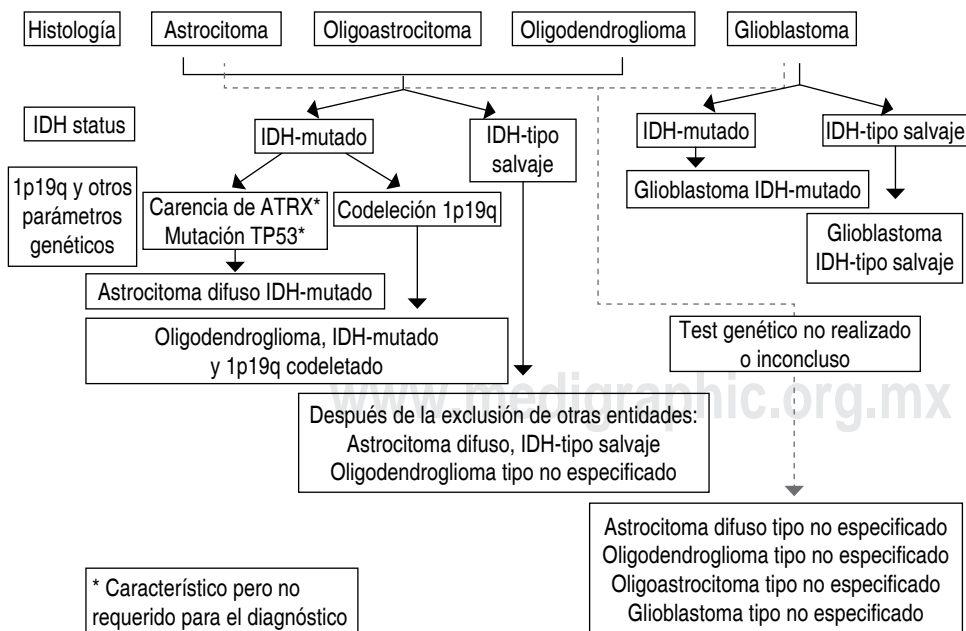


Figura 2.

Nuevo algoritmo diagnóstico para los tumores de origen astrocitario basado en la detección de biomarcadores moleculares. Obtenido y modificado de: Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Acta Neuropathol. 2016; 131 (6): 803-820.

En conclusión, la mutación de la isocitrato deshidrogenasa desempeña un papel importante en la génesis de los gliomas y es uno de los eventos más tempranos de la misma, los estudios empiezan a demostrar su utilidad como marcador diagnóstico (entre gliomas versus gliosis reactiva, gliomas grado I versus II y grado III versus IV). Estas alteraciones del gen IDH pueden explicar los eventos posteriores como la delección 1p19q, así como la metilación MGMT. La mutación IDH tiene efecto en la sobrevida global, lo cual es consistente en todas las series y las alteraciones moleculares de los gliomas se relacionan entre sí. Estos hallazgos tienen relevancia clínica y resta aún dilucidar si la presencia de la mutación IDH puede ser útil como marcador de buen pronóstico intrínseco o si se relaciona con una mejor respuesta al tratamiento.

CODELECCIÓN 1P19Q

La codelección 1p19q fue observada por vez primera en oligodendrogliomas por Reifenberger y cols.¹⁵ en 1994 y más tarde en 1998 por Cairncross,¹⁶ quienes demostraron que esta alteración tenía un efecto en la sobrevida global de los pacientes. La codelección es resultado de una traslocación balanceada entre el brazo corto del cromosoma 1 y el brazo largo del cromosoma 16. Esta translocación a nivel genómico corresponde a la pérdida completa de los brazos 1p y 19q. Diez años después de estos hallazgos, los resultados han sido reproducibles encontrándose la codelección en 80-90% de los oligodendrogliomas (OG) grado II, en 50-70% en OG grado III y en 20-30% en gliomas mixtos.¹⁷

CODELECCIÓN 1P19Q

Y SU PAPEL PRONÓSTICO

Después de las primeras descripciones de la codelección 1p19q los trabajos se han centralizado en la búsqueda de genes candidatos en estas regiones, pero aún no hay reportes de ningún gen candidato. En los últimos años se ha planteado la asociación de la delección 1p19q y buen pronóstico, en forma independiente de su asociación con la sensibilidad a procarbazona, lomustina, vincristina, temozolamida y radioterapia.¹⁸⁻³¹ Ricard y cols.³² analizaron una serie de pacientes en los que midieron el volumen tumoral por año y observaron que los gliomas de bajo grado portadores de la codelección 1p19q tenían una velocidad de crecimiento de 3.4 mm/año, mientras que aquéllos que no la tenían crecían 5.9 mm/año. En el mismo trabajo el autor detectó que la codelección 1p19q tenía un efecto favorable en

el tiempo de respuesta al tratamiento, resultado que fue reproducido por Kaloshi³³ en una serie de pacientes con gliomatosis cerebral, portadores de la codelección 1p19q, tratados con temozolamida (88% versus 25%). Estos hallazgos podrían apoyar las dos hipótesis siendo la más consistente y reproducible la asociación de la codelección 1p19q y la quimiosensibilidad.

CODELECCIÓN 1P19Q

“VERDADERA Y FALSA”

Las primeras descripciones mostraron que la delección del cromosoma 1p era de buen pronóstico y que éste era aún mejor si se asociaba también a delecciones del cromosoma 19q. Ichimura y cols.³⁴ e Idbaih y cols.³⁵ describieron que el tipo de pérdida del cromosoma 1p de forma completa “delección verdadera” está asociado a una histología oligodendroglioma con un pronóstico más favorable. El segundo tipo de delección descrito es el parcial y distal de la región 1p36, denominado “delección falsa” que se asocia a un tipo histológico tipo astrocitario con un pronóstico desfavorable.

CODELECCIÓN 1P19Q CORRELACIONES

MOLECULARES-CLÍNICO-RADIOLÓGICAS

La codelección 1p19q se ha vinculado a la mutación IDH en 90% en la serie de Labussière y cols.¹¹ y en 68.5% a la metilación del promotor MGMT en la serie de Brandes.³⁰ La codelección 1p19q guarda una relación inversa con la amplificación EGFR, p53 y otras amplificaciones que tienen un pronóstico sombrío. Un estudio de expresión genética muestra que los tumores con la delección 1p19q muestran un perfil genético de expresión proneuronal que se asocia a buen pronóstico.³⁶ Hay una fuerte asociación de la codelección 1p19q y el tipo histológico oligodendroglioma y, desde el punto de vista radiológico, los tumores deletados han mostrado ser más frecuentes en regiones frontales, parietales y occipitales en comparación a los no-deletados que se presentan en la región temporal, insular y en los núcleos basales, sin ser esto patognomónico de la codelección.³⁷⁻⁴⁷

CODELECCIÓN 1P19Q Y SOBREVIDA

En dos estudios fase III realizados por Cairncross y cols. y van de Bent y cols.^{48,49} 74% con gliomas grado III fueron tratados con radioterapia y PCV (procarbazona, CCNU y vincristina) aún estaban vivos a 60 meses de seguimiento, siendo la sobrevida > 7 años versus 2.8 años

entre deletados y no deletados. La codeleción 1p19q se describió por primera vez hace más de 10 años y desde entonces ha sido estudiada ampliamente, constituyéndose como un marcador de estirpe oligodendrogial que se asocia a un perfil proneuronal, guarda correlación directa con factores genéticos de buen pronóstico (IDH y MGMT), se correlaciona inversamente con los factores genéticos de mal pronóstico (p53 y EGFR) y sobre todo se asocia a buen pronóstico al relacionarse con la sensibilidad a tratamiento químico y a radioterapia, aunque se desconocen los mecanismos que provocan la quimio-radio sensibilidad.

CIC y FUBP1

Las alteraciones en las proteínas CIC y FUBP se han descrito recientemente como parte de los marcadores en tumores de origen glial. La mutación en el gen CIC está localizada en el cromosoma 19q13.2 y se incluyen inserciones y deleciones como parte de la alteración de este gen. Entre las mutaciones somáticas observadas en CIC se encuentran el dominio ADN-HMG y el dominio interacción proteína-proteína Groucho.⁵⁰ La unión a FUBP1 se produce en la hebra no codificante y es importante para la regulación de c-myc en células indiferenciadas. Esta proteína contiene tres dominios, un dominio anfipático hélice N-terminal, un dominio central de unión a ADN y un dominio de transactivación C-terminal que contiene tres sitios de tirosina. Se presume que el dominio N-terminal reprime la actividad del dominio C-terminal. También se cree que esta proteína se une el ARN y contiene 3'-5' actividad helicasa con la actividad *in vitro* tanto de ADN-ADN y ARN-dúplex de ARN. La expresión anormal de la proteína se ha detectado en tumores malignos. La mayor frecuencia de mutaciones CIC y FUBP1 en los oligodendrogliomas es de 38 y 14% y en los oligodendrogliomas anaplásicos 52 y 31%. A diferencia de los glioblastomas, en los que se encontraron mutaciones en menos de 2%.⁵⁰ Cada tumor glial que presenta mutaciones en genes CIC y FUBP1 también muestra mutación en el gen IDH; y casi todos los tumores gliales con estas mutaciones muestran codeleción 1p19q, elucidando que estos marcadores moleculares son de gran utilidad en la clasificación y diagnóstico de los oligodendrogliomas.⁵⁰

ATRX. ALFA TALASEMIA LIGADA A X/CON DISCAPACIDAD INTELECTUAL

Stayton et al. (1994) describieron la clonación y caracterización de un gen llamado provisionalmente

helicasa-X ligada al X (XH2), localizado en el cromosoma Xq13 que posteriormente se conocería como *alpha thalassemia/mental retardation syndrome X-linked* (ATRX).⁵¹ Picketts et al. (1996) establecieron la secuencia de longitud completa del cADN de ATRX. Mostraron que ATRX es un miembro de la SNF2-como subgrupo de una superfamilia de proteínas con similar ATPasa y helicasa dominios.⁵² La región N-terminal contiene una señal de localización nuclear. Villard et al. (1997) determinaron que el gen ATRX codifica una proteína predicha de 2.492 aminoácidos. Uno de estos transcritos alternativamente empalmados se expresa predominantemente en tejidos embrionarios. El regulador transcripcional ATRX contiene un dominio ATPasa/helicasa y por lo tanto pertenece a la familia SWI/SNF de proteínas de remodelación de la cromatina. Esta proteína se encuentra para someterse al ciclo celular y participa en la regulación de genes en interfase y en la segregación cromosómica en la mitosis.⁵³

Estudios recientes en gliomas han revelado una alta incidencia de esta mutación en astrocitomas difusos y astrocitomas anaplásicos en 90 y 89% de estos tumores respectivamente.⁵⁴ Por otro lado, dicho marcador se encuentra casi ausente en oligodendrogliomas (< 1%) y en glioblastomas < 18%, lo que convierte a este marcador tumoral en una excelente herramienta para el diagnóstico de tumores astrocíticos difusos y anaplásicos y a su vez logra diferenciar un astrocitoma de un oligodendroglioma. Recientemente este marcador tumoral se ha asociado a gliomas que expresan la mutación IDH 1, TP53 y H3F3A [37]. La pérdida de ATRX evaluada por inmunohistoquímica se ha reportado en 27% en grado II y 41% en astrocitomas de grado III en adultos, en comparación con una mutación tasa de 33 y 46%, respectivamente [15]. Otro estudio reciente revela una frecuencia mayor de 73% en una serie de 44 astrocitomas anaplásicos.⁵⁵ Estos estudios demostraron en particular que la pérdida de expresión de ATRX es más común en tumores astrocíticos que en tumores gliales mixtos y es rara en oligodendrogliomas puros. La pérdida de la expresión de ATRX está altamente asociada a la mutación IDH y a la C1p19q que son casi mutuamente excluyentes. El valor pronóstico del estado de ATRX en diferentes tumores es controvertida; en los gliomas, la mutación ATRX se ha asociado a un mejor pronóstico en una cohorte retrospectiva de tumores grado II, III.⁵⁶ El Grupo de Trabajo de Neurooncología de la Asociación Alemana de Society NOA-04 exploró la secuencia óptima de radioterapia y quimioterapia alquilante en pacientes recién diagnosticados, anaplásicos confirmados cen-

tralmente gliomas. NOA-04 reveló radioterapia inicial o quimioterapia comparable con las mutaciones de IDH como un factor pronóstico positivo en los gliomas anaplásicos.²⁴

MUTACIONES DE TP53

TP53 es un gen supresor tumoral que codifica la proteína p53; ésta se encuentra en el núcleo celular en bajas concentraciones y tiene una vida media de 20 minutos aproximadamente. Su función es la regulación de la glucólisis y la apoptosis inducida por TP53 (TIGAR). Mediante la dirección de la glucosa hacia la ruta de las pentosas fosfato (PPP), la TIGAR ocasiona la reducción de las especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) por disminución de la fructosa-2,6-bisfosfato (Fru-2,6-P2), la cual aumenta la producción de NADPH y mejora la capacidad celular de manejar el estrés redox para protegerse de la apoptosis.⁵⁷ Para ilustrar la relevancia de TIGAR como regulador del estrés oxidativo y modulador de la autofagia, apoptosis y senescencia, cabe resaltar que las ROS en concentraciones altas inducen daño genotóxico, cáncer y muerte celular.⁵⁸ La Fru-2,6-P2 es un metabolito que actúa como regulador clave de la glucólisis, cuya concentración depende de la actividad de diferentes enzimas bifuncionales codificadas por cuatro genes (PFKFB 1-4).⁵⁹ La transcripción de uno de ellos, el PFKFB3 es modulada por el factor inducible por hipoxia-1 (HIF-1), el cual se ha observado sobrerregulado en pacientes con cáncer. Tanto la síntesis como la eliminación de Fru-2,6-P2 por PFKFB3 y TIGAR son controladas respectivamente por el HIF-1 y p53. Esto demuestra la importancia de la regulación metabólica para la supresión tumoral.⁶⁰ El estrés oxidativo alrededor de la zona necrótica en los GB se asocia a una producción aumentada del HIF-1, que a su vez favorece la neoformación vascular y la proliferación endotelial, características histológicas del GB.⁶¹ Numerosos estudios han identificado diferentes mecanismos moleculares de radiorresistencia celular en los gliomas.⁶² Una hipótesis se basa en las concentraciones de ROS inducidas por la radiación, lo cual afecta la reparación de la ruptura de ADN de doble cadena.⁶³ Las concentraciones de ROS están influenciadas por factores endógenos que incluyen la actividad antioxidante TIGAR.⁶³⁻⁶⁵ La mutación de TP53 y su sobreexpresión se asocian típicamente a un fenotipo astrocítico.⁶⁶ Recientemente, se han identificado mutaciones TP53 recurrentes en aproximadamente dos tercios de los casos de oligodendrogliomas,

asociadas estrechamente a la codeleción 1p/19q.⁶⁷⁻⁶⁹ En este contexto, el desmontaje de TIGAR es una nueva estrategia terapéutica contra los tumores gliales que permite, mediante el aumento del deterioro celular inducido por radiación, el uso de dosis más bajas de radioterapia.⁷⁰

Metilación del gen de la metil-guanina metiltransferasa (MGMT)

La metiltransferasa de ADN o metil-guanina O-6 es una enzima codificada por el gen de la MGMT, la cual tiene gran relevancia clínica porque al presentar metilación de su región promotora hace más efectivo el tratamiento anticancerígeno con agentes alquilantes como la temozolamida. La MGMT es una enzima reparadora del ADN que elimina el grupo alquilo de la posición O-6 de la guanina, función que le confiere fármaco-resistencia a los tumores tratados con agentes alquilantes. La metilación de este gen permite inactivar la actividad de la enzima haciendo a las células más susceptibles al tratamiento. El gen MGMT está localizado en la región 10q26, tiene cinco exones y contiene extensas y abundantes islas ricas de CpG en la región promotora. En el tejido normal las islas CpG no se encuentran metiladas.⁷¹⁻⁷⁷

Metil-guanina metiltransferasa (MGMT) y su asociación a eficacia terapéutica

Esteller y cols.⁷⁸ describieron la asociación de la metilación del promotor del gen de la enzima MGMT a la respuesta terapéutica de los agentes alquilantes, pero el interés aumentó cuando Hegi y cols.⁷⁹ en un estudio fase III reportaron que los pacientes afectados de un glioblastoma, que presentaban metilación en la región del promotor del gen MGMT tenían una supervivencia más larga que los que no la tenían y que habían sido tratados con temozolamida. La interpretación de lo anterior es que las enzimas MGMT de reparación del ADN en pacientes con el gen MGMT no metilado se encuentran inactivas, condicionando una mayor eficacia de los agentes alquilantes, pero el grupo de pacientes con el gen MGMT no metilado mostró sensibilidad al tratamiento. Estos estudios revelaron un marcador interesante y plantearon que su detección sería indispensable en todos los pacientes, su frecuencia se reportó entre 35 y 73% de GB. Hoy en día, sabemos que su detección no resulta fundamental, sólo en situaciones particulares, ya que desde el punto de vista práctico existen múltiples técnicas de detección de la

metilación del gen con resultados variables, tales como: PCR metilación específica, PCR cuantitativa, espectroscopia de masas, fusión sensible de alta resolución (*methylation sensitive-high resolution melting*), pirosecuenciación, etc. Muchas de estas técnicas dependen de la experiencia del operador y fácilmente pueden pasar desapercibidas o ser positivas negativas en gente inexperta, en estudios de inmunohistoquímica no ha sido reproducible y existe un alto nivel de discordancia interobservador, además de que la conservación del material (parafina) puede modificar los resultados. Un fenómeno bien descrito es que el perfil de metilación cambia con la evolución de la enfermedad, siendo más frecuente que los pacientes metilados pasen a un estado no metilado. Por último, el tratamiento estándar hasta nuestros días es el mismo sin importar el perfil de MGMT y aunque hay diferencias de sobrevida, los pacientes no metilados parecen también beneficiarse de la administración de agentes alquilantes, junto con la radioterapia.^{77,80-86} Una de las determinaciones más prácticas del gen MGMT se da en los casos de pseudoprogresión (agravación radiológica dentro de los primeros tres meses después de la radioterapia), dicha pseudoprogresión se había reportado en 1% en pacientes que se sometían a radioterapia sola, pero con la introducción del protocolo STUPP en GB la frecuencia de pseudoprogresión es de alrededor de 15-30%. Esta pseudoprogresión se asocia a la metilación del promotor del gen MGMT, siendo la imagen radiológica resultado de la eficacia del tratamiento.⁸⁷⁻⁹⁴ En la práctica, en los casos de pseudoprogresión que se encuentran con metilación del promotor MGMT, la conducta a seguir es continuar el tratamiento y en los casos de pseudoprogresión y sin metilación de la región del promotor MGMT puede considerarse un cambio de tratamiento de forma temprana, ya que estos casos pueden corresponder a una progresión verdadera.⁹⁵⁻⁹⁹ A pesar de que los datos del valor predictivo de MGMT son consistentes y convincentes, su validación de forma prospectiva está pendiente y su presencia no modifica la conducta terapéutica y a falta de otras opciones de tratamiento, la temozolamida seguirá siendo un medicamento estándar en el manejo. Hay problemas para la determinación de la metilación del gen de la MGMT: su detección es compleja y el operador dependiente, el patrón de metilación cambia durante la evolución de la enfermedad. Su utilidad práctica se da en la pseudoprogresión y en los ensayos clínicos para la estratificación de pacientes para ampliar la experiencia y responder a la pregunta si es o no un factor de buen pronóstico. Su descubrimiento

resultó interesante, pero sus usos y la falta de técnicas totalmente confiables hacen que la técnica se limite a estas circunstancias.

CONCLUSIONES

La determinación de nuevos biomarcadores moleculares para el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de los tumores cerebrales, particularmente los gliomas, ha revolucionado el abordaje y la perspectiva de este tipo de neoplasias.

Las nuevas técnicas de biología molecular sumadas a las técnicas convencionales de histología son de gran utilidad para llegar al diagnóstico exacto de las distintas neoplasias de origen glial.

La implementación de estas herramientas de diagnóstico debe ser prioridad en todos los servicios de neuropatología.

BIBLIOGRAFÍA

1. Singh SK, Clarke ID, Hide T, Dirks PB. Cancer stem cells in nervous system tumors. *Oncogene*. 2004; 23 (43): 7267-7273.
2. Stiles CD, Rowitch DH. Glioma stem cells: a midterm exam. *Neuron*. 2008; 58 (6): 832-846.
3. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol*. 2007; 114 (2): 97-109.
4. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*. 2016; 131 (6): 803-820.
5. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science*. 2008; 321 (5897): 1807-1812.
6. Sanson M, Marie Y, Paris S, Idhah A, Laffaire J, Ducray F et al. Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *J Clin Oncol*. 2009; 27 (25): 4150-4154.
7. Chotirat S, Thongnoppakhun W, Promsuvicha O, Boonthimart C, Auewarakul CU. Molecular alterations of isocitrate dehydrogenase 1 and 2 (IDH1 and IDH2) metabolic genes and additional genetic mutations in newly diagnosed acute myeloid leukemia patients. *J Hematol Oncol*. 2012; 5: 5.
8. Borger DR, Tanabe KK, Fan KC, Lopez HU, Fantin VR, Straley KS et al. Frequent mutation of isocitrate dehydrogenase (IDH)1 and IDH2 in cholangiocarcinoma identified through broad-based tumor genotyping. *Oncologist*. 2012; 17 (1): 72-79.
9. Hartmann C, Meyer J, Balss J, Capper D, Mueller W, Christians A et al. Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentiation and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol*. 2009; 118 (4): 469-474.
10. Dang L, White DW, Gross S, Bennett BD, Bittinger MA, Driggers EM et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature*. 2010; 465 (7300): 966.
11. Labussière M, Idhah A, Wang XW, Marie Y, Boisselier B, Falet C et al. All the 1p19q codeleted gliomas are mutated on IDH1 or IDH2. *Neurology*. 2010; 74 (23): 1886-1890.

12. Camelo-Piragua S, Jansen M, Ganguly A, Kim JC, Louis DN, Nutt CL. Mutant IDH1-specific immunohistochemistry distinguishes diffuse astrocytoma from astrocytosis. *Acta Neuropathol.* 2010; 119 (4): 509-511.
13. Capper D, Weissert S, Balss J, Habel A, Meyer J, Jäger D et al. Characterization of R132H mutation-specific IDH1 antibody binding in brain tumors. *Brain Pathol.* 2010; 20 (1): 245-254.
14. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med.* 2009; 360 (8): 765-773.
15. Reifenberger J, Reifenberger G, Liu L, James CD, Wechsler W, Collins VP. Molecular genetic analysis of oligodendroglial tumors shows preferential allelic deletions on 19q and 1p. *Am J Pathol.* 1994; 145 (5): 1175-1190.
16. Cairncross JG, Ueki K, Zlatescu MC, Lisle DK, Finkelstein DM, Hammond RR et al. Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas. *J Natl Cancer Inst.* 1998; 90 (19): 1473-1479.
17. Abrey LE, Louis DN, Paleologos N, Lassman AB, Raizer JJ, Mason W et al. Survey of treatment recommendations for anaplastic oligodendroglioma. *Neuro Oncol.* 2007; 9 (3): 314-318.
18. Glass J, Hochberg FH, Gruber ML, Louis DN, Smith D, Rattner B. The treatment of oligodendrogliomas and mixed oligodendroglioma-astrocytomas with PCV chemotherapy. *J Neurosurg.* 1992; 76 (5): 741-745.
19. Kouwenhoven MC, Kros JM, French PJ, Biemond-ter Stege EM, Graveland WJ, Taphoorn MJ et al. 1p/19q loss within oligodendroglioma is predictive for response to first line temozolomide but not to salvage treatment. *Eur J Cancer.* 2006; 42 (15): 2499-2503.
20. Bauman GS, Ino Y, Ueki K, Zlatescu MC, Fisher BJ, Macdonald DR et al. Allelic loss of chromosome 1p and radiotherapy plus chemotherapy in patients with oligodendrogliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000; 48 (3): 825-830.
21. Jenkins RB, Blair H, Ballman KV, Giannini C, Arusell RM, Law M et al. A t(1;19)(q10;p10) mediates the combined deletions of 1p and 19q and predicts a better prognosis of patients with oligodendroglioma. *Cancer Res.* 2006; 66 (20): 9852-9861.
22. Smith JS, Perry A, Borell TJ, Lee HK, O'Fallon J, Hosek SM et al. Alterations of chromosome arms 1p and 19q as predictors of survival in oligodendrogliomas, astrocytomas, and mixed oligoastrocytomas. *J Clin Oncol.* 2000; 18 (3): 636-645.
23. Kouwenhoven MC, Gorlia T, Kros JM, Idbaih A, Brandes AA, Bromberg JE et al. Molecular analysis of anaplastic oligodendroglial tumors in a prospective randomized study: A report from EORTC study 26951. *Neuro Oncol.* 2009; 11 (6): 737-746.
24. Wick W, Hartmann C, Engel C, Stoffels M, Felsberg J, Stockhammer F et al. NOA-04 randomized phase III trial of sequential radiochemotherapy of anaplastic glioma with procarbazine, lomustine, and vincristine or temozolomide. *J Clin Oncol.* 2009; 27 (35): 5874-5880.
25. Idbaih A, Omuro A, Ducray F, Hoang-Xuan K. Molecular genetic markers as predictors of response to chemotherapy in gliomas. *Curr Opin Oncol.* 2007; 19 (6): 606-611.
26. Kaloshi G, Benouaich-Amiel A, Diakite F, Taillibert S, Lejeune J, Laigle-Donadey F et al. Temozolomide for low-grade gliomas: predictive impact of 1p/19q loss on response and outcome. *Neurology.* 2007; 68 (21): 1831-1836.
27. Levin N, Lavon I, Zelikovitch B, Fuchs D, Bokstein F, Fellig Y et al. Progressive low-grade oligodendrogliomas: response to temozolomide and correlation between genetic profile and O6-methylguanine DNA methyltransferase protein expression. *Cancer.* 2006; 106 (8): 1759-1765.
28. Hoang-Xuan K, Capelle L, Kujas M, Taillibert S, Duffau H, Lejeune J et al. Temozolomide as initial treatment for adults with low-grade oligodendrogliomas or oligoastrocytomas and correlation with chromosome 1p deletions. *J Clin Oncol.* 2004; 22 (15): 3133-3138.
29. Walker C, Haylock B, Husband D, Joyce KA, Fildes D, Jenkinson MD et al. Clinical use of genotype to predict chemosensitivity in oligodendroglial tumors. *Neurology.* 2006; 66 (11): 1661-1667.
30. Brandes AA, Tosoni A, Cavallo G, Reni M, Franceschi E, Bonaldi L et al. Correlations between O6-methylguanine DNA methyltransferase promoter methylation status, 1p and 19q deletions, and response to temozolomide in anaplastic and recurrent oligodendroglioma: a prospective GICNO study. *J Clin Oncol.* 2006; 24 (29): 4746-4753.
31. Weller M, Berger H, Hartmann C, Schramm J, Westphal M, Simon M et al. Combined 1p/19q loss in oligodendroglial tumors: predictive or prognostic biomarker? *Clin Cancer Res.* 2007; 13 (23): 6933-6937.
32. Ricard D, Kaloshi G, Amiel-Benouaich A, Lejeune J, Marie Y, Mandonnet E et al. Dynamic history of low-grade gliomas before and after temozolomide treatment. *Ann Neurol.* 2007; 61 (5): 484-490.
33. Kaloshi G, Guillemin R, Martin-Duverneuil N, Laigle-Donadey F, Psimaras D, Marie Y et al. Gray matter involvement predicts chemosensitivity and prognosis in gliomatosis cerebri. *Neurology.* 2009; 73 (6): 445-449.
34. Ichimura K, Pearson DM, Kocalkowski S, Bäcklund LM, Chan R, Jones DT et al. IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. *Neuro Oncol.* 2009; 11 (4): 341-347.
35. Idbaih A, Marie Y, Pierron G, Brennetot C, Hoang-Xuan K, Kujas M et al. Two types of chromosome 1p losses with opposite significance in gliomas. *Ann Neurol.* 2005; 58 (3): 483-487.
36. Ducray F, Idbaih A, de Reyniès A, Bièche I, Thillet J, Mokhtari K et al. Anaplastic oligodendrogliomas with 1p19q codeletion have a proneural gene expression profile. *Mol Cancer.* 2008; 7: 41.
37. Smith JS, Alderete B, Minn Y, Borell TJ, Perry A, Mohapatra G et al. Localization of common deletion regions on 1p and 19q in human gliomas and their association with histological subtype. *Oncogene.* 1999; 18 (28): 4144-4152.
38. Griffin CA, Burger P, Morsberger L, Yonescu R, Swierczynski S, Weingart JD et al. Identification of der(1;19)(q10;p10) in five oligodendrogliomas suggests mechanism of concurrent 1p and 19q loss. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2006; 65 (10): 988-994.
39. Nutt CL. Molecular genetics of oligodendrogliomas: a model for improved clinical management in the field of neurooncology. *Neurosurg Focus.* 2005; 19 (5): E2.
40. Aldape K, Burger PC, Perry A. Clinicopathologic aspects of 1p/19q loss and the diagnosis of oligodendroglioma. *Arch Pathol Lab Med.* 2007; 131 (2): 242-251.
41. Eoli M, Bissola L, Bruzzone MG, Pollo B, Maccagnano C, De Simone T et al. Reclassification of oligoastrocytomas by loss of heterozygosity studies. *Int J Cancer.* 2006; 119 (1): 84-90.
42. Reifenberger G, Louis DN. Oligodendroglioma: toward molecular definitions in diagnostic neuro-oncology. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2003; 62 (2): 111-126.
43. Snuderl M, Eichler AF, Ligon KL, Vu QU, Silver M, Betensky RA et al. Polysomy for chromosomes 1 and 19 predicts earlier recurrence in anaplastic oligodendrogliomas with concurrent 1p/19q loss. *Clin Cancer Res.* 2009; 15 (20): 6430-6437.

44. Tang Q, Lian Y, Yu J, Wang Y, Shi Z, Chen L. Anatomic mapping of molecular subtypes in diffuse glioma. *BMC Neurol*. 2017 Sep 15;17 (1): 183.
45. Yip S, Iafrate AJ, Louis DN. Molecular diagnostic testing in malignant gliomas: a practical update on predictive markers. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2008; 67 (1): 1-15.
46. Zlatescu MC, TehraniYazdi A, Sasaki H, Megyesi JF, Betensky RA, Louis DN et al. Tumor location and growth pattern correlate with genetic signature in oligodendroglial neoplasms. *Cancer Res*. 2001; 61 (18): 6713-6715.
47. Laigle-Donadey F, Martin-Duverneuil N, Lejeune J, Crinière E, Capelle L, Duffau H et al. Correlations between molecular profile and radiologic pattern in oligodendroglial tumors. *Neurology*. 2004; 63 (12): 2360-2362.
48. Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402, Cairncross G, Berkey B, Shaw E, Jenkins R, Scheithauer B et al. Phase III trial of chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone for pure and mixed anaplastic oligodendroglioma: Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402. *J Clin Oncol*. 2006; 24 (18): 2707-2714.
49. van den Bent MJ, Carpentier AF, Brandes AA, Sanson M, Taphoorn MJ, Bernsen HJ et al. 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. *J Clin Oncol*. 2006; 24 (18): 2715-2722.
50. Jiao Y, Killela PJ, Reitman ZJ, Rasheed AB, Heaphy CM, de Wilde RF et al. Frequent ATRX, CIC, FUBP1 and IDH1 mutations refine the classification of malignant gliomas. *Oncotarget*. 2012; 3 (7): 709-722.
51. Stayton CL, Dabovic B, Gulisano M, Gecz J, Broccoli V, Giovanazzi S et al. Cloning and characterization of a new human Xq13 gene, encoding a putative helicase. *Hum Mol Genet*. 1994; 3 (11): 1957-1964.
52. Picketts DJ, Higgs DR, Bachoo S, Blake DJ, Quarrell OW, Gibbons RJ. ATRX encodes a novel member of the SNF2 family of proteins: mutations point to a common mechanism underlying the ATR-X syndrome. *Hum Mol Genet*. 1996; 5 (12): 1899-1907.
53. Villard L, Lossi AM, Cardoso C, Proud V, Chiaroni P, Colleaux L et al. Determination of the genomic structure of the XNP/ATRX gene encoding a potential zinc finger helicase. *Genomics*. 1997; 43 (2): 149-155.
54. Reuss DE, Sahm F, Schrimpf D, Wiestler B, Capper D, Koelsche C 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*. 2015; 129 (1): 133-146.
55. Ebrahimi A, Skardelly M, Bonzheim I, Ott I, Mühleisen H, Eckert F et al. ATRX immunostaining predicts IDH and H3F3A status in gliomas. *Acta Neuropathol Commun*. 2016; 4 (1): 60.
56. Takano S, Ishikawa E, Sakamoto N, Matsuda M, Akutsu H, Noguchi M et al. Immunohistochemistry on IDH 1/2, ATRX, p53 and Ki-67 substitute molecular genetic testing and predict patient prognosis in grade III adult diffuse gliomas. *Brain Tumor Pathol*. 2016; 33 (2): 107-116.
57. Bensaad K, Tsuruta A, Selak MA, Vidal MN, Nakano K, Bartrons R et al. Cell. TIGAR, a p53-inducible regulator of glycolysis and apoptosis. 2006; 126 (1): 107-120.
58. Bensaad K, Cheung EC, Vousden KH. Modulation of intracellular ROS levels by TIGAR controls autophagy. *EMBO J*. 2009; 28 (19): 3015-3026.
59. Hasegawa H, Yamada Y, Iha H, Tsukasaki K, Nagai K, Atogami S et al. Activation of p53 by Nutlin-3a, an antagonist of MDM2, induces apoptosis and cellular senescence in adult T-cell leukemia cells. *Leukemia*. 2009; 23 (11): 2090-2101.
60. Okar DA, Manzano A, Navarro-Sabatè A, Riera L, Bartrons R, Lange AJ. PFK-2/FBPase-2: maker and breaker of the essential biofactor fructose-2,6-bisphosphate. *Trends Biochem Sci*. 2001; 26 (1): 30-35.
61. Obach M, Navarro-Sabatè A, Caro J, Kong X, Duran J, Gómez M et al. 6-Phosphofructo-2-kinase (pikfb3) gene promoter contains hypoxia-inducible factor-1 binding sites necessary for transactivation in response to hypoxia. *J Biol Chem*. 2004; 279 (51): 53562-53570.
62. Sathornsumetee S, Reardon DA, Desjardins A, Quinn JA, Vredenburgh JJ, Rich JN. Molecularly targeted therapy for malignant glioma. *Cancer*. 2007; 110 (1): 13-24.
63. Russo AL, Kwon HC, Burgan WE, Carter D, Beam K, Weizheng X et al. *Clin Cancer Res*. *In vitro* and *in vivo* radiosensitization of glioblastoma cells by the poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor E7016. 2009; 15 (2): 607-612.
64. Dewhirst MW, Cao Y, Moeller B. Cycling hypoxia and free radicals regulate angiogenesis and radiotherapy response. *Nat Rev Cancer*. 2008; 8 (6): 425-437.
65. Gottlieb E, Vousden KH. p53 regulation of metabolic pathways. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010; 2 (4): a001040.
66. King A, Gottlieb E. Glucose metabolism and programmed cell death: an evolutionary and mechanistic perspective. *Curr Opin Cell Biol*. 2009; 21 (6): 885-893.
67. 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): 479-489.
68. Bettgowda C, Agrawal N, Jiao Y, Sausen M, Wood LD, Hruban RH et al. Mutations in CIC and FUBP1 contribute to human oligodendroglioma. *Science*. 2011; 333 (6048): 1453-1455.
69. Yip S, Butterfield YS, Morozova O, Chittaranjan S, Blough MD, An J et al. Concurrent CIC mutations, IDH mutations, and 1p/19q loss distinguish oligodendrogliomas from other cancers. *J Pathol*. 2012; 226 (1): 7-16.
70. Peña-Rico MA, Calvo-Vidal MN, Villalonga-Planells R, Martínez-Soler F, Giménez-Bonafé P, Navarro-Sabatè À et al. TP53 induced glycolysis and apoptosis regulator (TIGAR) knockdown results in radiosensitization of glioma cells. *Radiother Oncol*. 2011; 101 (1): 132-139.
71. Silber JR, Bobola MS, Ghatan S, Blank A, Kolstoe DD, Berger MS. O6-methylguanine-DNA methyltransferase activity in adult gliomas: relation to patient and tumor characteristics. *Cancer Res*. 1998; 58 (5): 1068-1073.
72. Jaeckle KA, Eyre HJ, Townsend JJ, Schulman S, Knudson HM, Belanich M et al. Correlation of tumor O6 methylguanine-DNA methyltransferase levels with survival of malignant astrocytoma patients treated with bis-chloroethylnitrosourea: a Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol*. 1998; 16 (10): 3310-3315.
73. Martinez R, Schackert G, Yaya-Tur R, Rojas-Marcos I, Herman JG, Esteller M. Frequent hypermethylation of the DNA repair gene MGMT in long-term survivors of glioblastoma multiforme. *J Neurooncol*. 2007; 83 (1): 91-93.
74. Pollack IF, Hamilton RL, Sobol RW, Burnham J, Yates AJ, Holmes EJ et al. O6-methylguanine-DNA methyltransferase expression strongly correlates with outcome in childhood malignant gliomas: results from the CCG-945 Cohort. *J Clin Oncol*. 2006; 24 (21): 3431-3437.

75. Everhard S, Kaloshi G, Crinière E, Benouaich-Amiel A, Lejeune J, Marie Y et al. MGMT methylation: a marker of response to temozolomide in low-grade gliomas. *Ann Neurol*. 2006; 60 (6): 740-743.
76. Gerstner ER, Yip S, Wang DL, Louis DN, Iafrate AJ, Batchelor TT. Mgmt methylation is a prognostic biomarker in elderly patients with newly diagnosed glioblastoma. *Neurology*. 2009; 73 (18): 1509-1510.
77. Hau P, Stupp R, Hegi ME. MGMT methylation status: the advent of stratified therapy in glioblastoma? *Dis Markers*. 2007; 23 (1-2): 97-104.
78. Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, Goodman SN, Hidalgo OF, Vanaclocha V et al. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med*. 2000; 343 (19): 1350-1354.
79. Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M et al. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005; 352 (10): 997-1003.
80. Fraga MF, Esteller M. DNA methylation: a profile of methods and applications. *Biotechniques*. 2002; 33 (3): 632, 634, 636-649.
81. Preusser M. MGMT analysis at DNA, RNA and protein levels in glioblastoma tissue. *Histol Histopathol*. 2009; 24 (4): 511-518.
82. Maxwell JA, Johnson SP, Quinn JA, McLendon RE, Ali-Osman F, Friedman AH et al. Quantitative analysis of O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase in malignant glioma. *Mol Cancer Ther*. 2006; 5 (10): 2531-2539.
83. Jeuken JW, Cornelissen SJ, Vriezen M, Dekkers MM, Errami A, Sijben A et al. MS-MLPA: an attractive alternative laboratory assay for robust, reliable, and semiquantitative detection of MGMT promoter hypermethylation in gliomas. *Lab Invest*. 2007; 87 (10): 1055-1065.
84. Nakasu S, Fukami T, Baba K, Matsuda M. Immunohistochemical study for O6-methylguanine-DNA methyltransferase in the non-neoplastic and neoplastic components of gliomas. *J Neurooncol*. 2004; 70 (3): 333-340.
85. Preusser M, Charles Janzer R, Felsberg J, Reifenberger G, Hamou MF, Diserens AC et al. Anti-O6-methylguanine-methyltransferase (MGMT) immunohistochemistry in glioblastoma multiforme: observer variability and lack of association with patient survival impede its use as clinical biomarker. *Brain Pathol*. 2008; 18 (4): 520-532.
86. Weller M, Stupp R, Reifenberger G, Brandes AA, van den Bent MJ, Wick W et al. MGMT promoter methylation in malignant gliomas: ready for personalized medicine? *Nat Rev Neurol*. 2010; 6 (1): 39-51.
87. Håvik AB, Brandal P, Honne H, Dahlback HS, Scheie D, Hektoen M et al. MGMT promoter methylation in gliomas-assessment by pyrosequencing and quantitative methylation-specific PCR. *J Transl Med*. 2012; 10: 36.
88. Mellai M, Monzeglio O, Piazza A, Caldera V, Annovazzi L, Cassoni P et al. MGMT promoter hypermethylation and its associations with genetic alterations in a series of 350 brain tumors. *J Neurooncol*. 2012; 107 (3): 617-631.
89. Gömöri E, Pál J, Kovács B, Dóczi T. Concurrent hypermethylation of DNMT1, MGMT and EGFR genes in progression of gliomas. *Diagn Pathol*. 2012; 7: 8.
90. Hashimoto K, Narita Y, Matsushita Y, Miyakita Y, Ono M, Kayama T et al. Methylation status of O6-methylguanine-DNA-methyltransferase promoter region in non-small-cell lung cancer patients with brain metastasis. *Clin Transl Oncol*. 2012; 14 (1): 31-35.
91. Silber JR, Bobola MS, Blank A, Chamberlain MC. O(6)-methylguanine-DNA methyltransferase in glioma therapy: promise and problems. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1826 (1): 71-82.
92. Iliadis G, Kotoula V, Chatzistiriou A, Televantou D, Eleftheraki AG, Lambaki S et al. Volumetric and MGMT parameters in glioblastoma patients: survival analysis. *BMC Cancer*. 2012; 12: 3.
93. Reifenberger G, Hentschel B, Felsberg J, Schackert G, Simon M, Schnell O et al. Predictive impact of MGMT promoter methylation in glioblastoma of the elderly. *Int J Cancer*. 2012; 131 (6): 1342-1350.
94. Brandes AA, Franceschi E, Tosoni A, Blatt V, Pession A, Tallini G et al. MGMT promoter methylation status can predict the incidence and outcome of pseudoprogression after concomitant radiochemotherapy in newly diagnosed glioblastoma patients. *J Clin Oncol*. 2008; 26 (13): 2192-2197.
95. Fabi A, Russillo M, Metro G, Vidiri A, Di Giovanni S, Cognetti F. Pseudoprogression and MGMT status in glioblastoma patients: implications in clinical practice. *Anticancer Res*. 2009; 29 (7): 2607-2610.
96. Brandsma D, van den Bent MJ. Pseudoprogression and pseudoresponse in the treatment of gliomas. *Curr Opin Neurol*. 2009; 22 (6): 633-638.
97. Gerstner ER, McNamara MB, Norden AD, Lafrankie D, Wen PY. Effect of adding temozolomide to radiation therapy on the incidence of pseudo-progression. *J Neurooncol*. 2009; 94 (1): 97-101.
98. Taal W, Brandsma D, de Bruin HG, Bromberg JE, Swaak-Kragten AT, Smitt PA et al. Incidence of early pseudo-progression in a cohort of malignant glioma patients treated with chemoradiation with temozolomide. *Cancer*. 2008; 113 (2): 405-410.
99. Yamasaki F, Kurisu K, Aoki T, Yamanaka M, Kajiura Y, Watanabe Y et al. Advantages of high b-value diffusion-weighted imaging to diagnose pseudo-responses in patients with recurrent glioma after bevacizumab treatment. *Eur J Radiol*. 2012; 81 (10): 2805-2810.

Correspondencia:

Ignacio Reyes Moreno

E-mail: infoneuroquirurgica@gmail.com

www.medigraphic.org.mx