

UNIVERSIDAD ALCALÁ DE HENARES

**DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA DE SISTEMAS DENTRO DEL
PROGRAMA DE DOCTORADO DE CIENCIAS DE LA SALUD**



Universidad
de Alcalá

**ESTUDIO MOLECULAR DE LOS TUMORES
CEREBRALES OLIGODENDROGLIALES.**

TESIS DOCTORAL

MARIA ANGELES VAZ SALGADO

DIRECTORES:

**Dr Aurelio Hernandez Laín
Dr Alfredo Carrato Mena**

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo para optar al grado de doctor ha podido realizarse gracias a la colaboración y dedicación de muchas personas a las que reconozco su esfuerzo y apoyo.

En primer lugar, a mis directores de tesis:

El Dr Aurelio Hernandez Lain, por su imprescindible ayuda medios, en conocimientos, y apoyo constante. Sin él no hubiera sido posible el desarrollo de este trabajo.

El Dr Carrato por su importante aportación en conocimientos, experiencia y consejos.

A Jacqueline Rodriguez y Yolanda Ruano, del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital 12 de Octubre, por su contribución técnica en la elaboración de las técnicas del estudio anatomopatológico y molecular.

Al Dr Hector Pian, del Servicio de Anatomía Patológica del hospital Universitario Ramón y Cajal, por su contribución en la identificación de casos y muestras de anatomía patológica.

A mis compañeros del Servicio de Oncología Médica del hospital Universitario Ramón y Cajal por su ayuda y colaboración, que han hecho posible el desarrollo de este trabajo.

Quiero especialmente agradecer a mi familia, que han sido el principal apoyo para el desarrollo de este trabajo. Por estar siempre a mi lado cuando más lo necesito, especialmente a mis padres, brindándome siempre su respaldo incondicional.

A mis hijos por su paciencia y compañía durante las largas horas que ha exigido el desarrollo de esta tesis doctoral. Espero les haya servido para aprender que las cosas se consiguen con esfuerzo y dedicación.

Y especialmente a Juan Sepúlveda por su cariño y consejos, por su apoyo científico y emocional para llevar a cabo este trabajo.

ABREVIATURAS

ADN: Acido Desoxiribonucleico

ALT : *alternate lengthening telomeres.*

AP: Anatomía Patológica

ATRX: alpha thalasemia/mental retardation síndrome X-linked

ATRXmut: mutación de ATRX

Cdc: ciclinas

CDK: cinasas dependientes de ciclinas

CIC: ortólogo del gen capicúa de Drosophila

CGA: campo de gran aumento

EGFR: Receptor del factor de crecimiento epidérmico

HIF1: factor 1-alfa inducible por hipoxia

IDH: isocitrato deshidrogenasa

IDH1m: Mutación en IDH1

IDH2m: Mutación en IDH2

IMPACT-NOW: the Consortium to inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy- Not Official WHO

HRM: High Resolution Mlenting

IHQ: inmunohistoquímicos.

GB: glioblastoma

GBG: glioma de bajo grado

G-CIMP: CpG Island Methylator Phenotype-

MGMT: O⁶-metilguanina-DNA metil-transferasa

NCCN: National Comprehensive Cancer Nerwork

NOS: no otherwise specified.

OA: oligoastrocitoma

OD: oligodendroglioma

ODA: oligodendroglioma anaplásico

OMS: Organización Mundial de la Salud.

Rb: Retinoblastoma

RM: Resonancia Magnética

SEOM: Sociedad Española de Oncología Médica

SG: Supervivencia global

SLP: Supervivencia libre de progresión

SNC: Sistema Nervioso Central

WT: wild type

TERT: telomerasa transcriptasa reversa

TERTm: Mutación de TERT

1p/19q codeletion: codeleción de 1p/19q

TITULO DE LA TESIS

ESTUDIO MOLECULAR DE LOS TUMORES CEREBRALES OLIGODENDROGLIALES.

RESUMEN

Los tumores oligodendrogiales son poco frecuentes y clásicamente se han clasificado en tumores oligodendrogliomas grado II y grado III. Si presentan un componente astrocitario se han denominado oligoastrocitomas.

En este trabajo se han analizado los aspectos clínicos de estos tumores en una serie de casos con diagnóstico morfológico, según los criterios de la OMS previo a 2016, de oligodendroglioma o bien oligoastrocitoma y hemos incluido los de grado II y III. Se ha recogido información correspondiente a un periodo de 37 años (entre 1977 y 2014) y se han identificado 182 casos con estas características en dos hospitales terciarios de Madrid. A esta serie que incluía los casos por diagnóstico morfológico la hemos denominado cohorte inicial.

Posteriormente hemos realizado una reclasificación de esta cohorte inicial en base a los criterios moleculares con mutación de IDH y codelección de 1p/19q. A esta serie de casos le hemos dado la denominación de cohorte reclasificada.

En un primer paso se han descrito las características de la cohorte inicial.

En esta serie inicial hemos podido observar que estos tumores son es más frecuentes en varones, de predominio en la 5ª década de la vida y de localización predominante en lóbulo frontal, tal como se ha descrito previamente en la literatura.

Los pacientes fueron tratados con cirugía lo más extensa posible y en la mitad de los casos recibieron radioterapia y un tercio recibieron quimioterapia en base a las recomendaciones establecidas por la evidencia científica.

Los datos de supervivencia en esta cohorte inicial fueron de una supervivencia libre de progresión (SLP) de 5.95 años y supervivencia global (SG) de 13.06 años para los oligodendrogliomas de grado II y una SLP de 4 años y SG de 6 años para el oligodendroglioma de grado III. Estos datos también se ha constatado que están en línea con lo descrito previamente en la literatura. Además, se ha podido comprobar

que esta diferencia de supervivencia entre el grado II y el grado III alcanza la significación estadística en esta cohorte inicial, con los casos incluidos por criterios morfológicos.

Con la introducción de la clasificación molecular de estos tumores, no existía una buena descripción de la evolución de estos tumores y por ello se ha realizado posteriormente un análisis de la cohorte ya reclasificada, en la que quedaron incluidos 91 casos (59 casos de grado II y 32 casos de grado III). Al igual que en la cohorte inicial se ha observado una mayor prevalencia en varones, la localización predominante a nivel frontal y una mediana de edad de 45 años. Asimismo, se ha objetivado la realización de una cirugía lo más amplia posible con un 46% de casos considerados resección completa y un 5.5% de biopsias. También en el tratamiento postoperatorio los datos son muy similares a la cohorte inicial, con un 46% tratados con radioterapia, un 32% con quimioterapia y un 38.5% de casos que no han recibido ningún tratamiento postoperatorio.

Además, se ha analizado la supervivencia en esta cohorte reclasificada y se ha encontrado una mediana de supervivencia global de 13.3 años.

Un dato a destacar es que, tras aplicar estos criterios de clasificación moleculares, cuando se analizó esta mediana de supervivencia global por grado tumoral, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grado II y grado III (mediana de SG de 13.3 años para los oligodendrogliomas de grado II y de 12 años para los oligodendrogliomas de grado III). La clasificación molecular modifica el impacto del grado en la SG.

También hemos objetivado diferencias estadísticamente significativas entre la cohorte reclasificada y la que quedó excluida (mediana de 13.35 vs 7.52 años), por lo que la clasificación molecular permite identificar una serie de casos de forma más homogénea en cuanto al pronóstico y excluye casos con peor pronóstico.

En el momento de la primera progresión los pacientes recibieron diferentes tipos de tratamiento y solo un 9% no recibió más tratamiento. Hemos observado una disminución de la mediana de supervivencia con cada progresión. La mediana de supervivencia tras la primera progresión fue de 6 años.

Se ha revisado, por otra parte, en los tumores con diagnóstico inicial de bajo grado, la evolución en el momento de la primera progresión y hemos observado que un 54% de los que han tenido progresión presentaban datos de transformación a un grado tumoral

más alto (ya sea por captación de contraste en el RM, por datos de la anatomía patológica o ambos).

Los tumores con características morfológicas iniciales de oligoastocitoma se reclasificaron en un 30% con criterios moleculares de oligodendroglioma y su evolución fue similar al resto de la cohorte reclasificada.

Posteriormente se realizó un análisis de los resultados por grado histológico.

De la cohorte reclasificada 59 casos han sido de oligodendrogliomas de grado II. En estos pacientes se ha encontrado que los resultados de supervivencia son similares a los recibidos en otros estudios con tratamientos más intensivos de quimio y radioterapia, aunque en nuestra cohorte el 50% de los pacientes no recibe ningún tipo de tratamiento postoperatorio. Los datos de supervivencia en los pacientes sin ningún tipo de tratamiento alcanzan medianas de SG de 12.73 años. Los datos refuerzan que una vez que se aplican criterios moleculares se mejora el pronóstico independiente de los tratamientos adyuvantes aplicados y que asimismo los criterios clínicos del riesgo pierden su impacto cuando se aplican criterios moleculares (la SLP en los no tratados fue superior en los de riesgo alto que nos de riesgo bajo en los pacientes que no recibieron adyuvancia).

En el caso de los oligodendrogliomas de grado III, se han identificado 32 casos en la cohorte reclasificada. Del análisis de la supervivencia se ha podido también observar que, en esta cohorte reclasificada hay una mejor supervivencia, que se puede constatar en la mediana de supervivencia global encontrada incluso en aquellos casos que no han recibido ningún tipo de tratamiento postoperatorio (mediana de 12.27 años), indicando el impacto pronóstico de la clasificación molecular. De los tratamientos postoperatorios se ha observado un mayor beneficio para aquellos casos que reciben quimioterapia como parte del tratamiento adyuvante.

Por último, se ha analizado la evolución de aquellos casos que no han recibido tratamiento y se ha podido observar que la median de supervivencia global era similar para los de grado II y grado III (de 12.73 y 12.2 años respectivamente), lo que vuelve a resaltar que el grado pierde su impacto pronóstico cuando existe una clasificación molecular más precisa.

Entrando ya en los datos moleculares, por un lado, está el propio proceso de reclasificación. Un 52% de casos han sido reclasificados desde los casos iniciales por criterios morfológicos. Los criterios fundamentales que llevaron a esta reclasificación

fueron la ausencia de mutación de IDH en un 14% de los casos y la ausencia de codeleción de 1p/19q en un 33.5% de los casos.

El papel de la técnica de NGS permitió detectar la codeleción de 1p/19q en un 30% de los casos analizados (10/30 casos), asimismo hemos podido asegurar, con esta técnica, la consistencia de los datos moleculares.

El estudio molecular de la cohorte reclasificada indicó aproximadamente un 10% de mutación de IDH2. La mutación del promotor de TERT se ha objetivado en un 88% de los casos, El tipo de mutación de TERT ha sido la C250 en 36% y C228 en un 52% de los casos. No hemos encontrado que ninguno de estos datos tenga un impacto en el pronóstico.

En cuanto a la vía de las ciclinas: En esta serie se ha encontrado ausencia de expresión de p16 tanto en los oligodendrogliomas grado II como grado III. Además, esta pérdida de expresión, en nuestra serie, se asoció a una peor supervivencia global de forma estadísticamente significativa en los oligodendrogliomas de grado III (con mediana de SG de 4.76 años vs 17.49 años en ausencia vs presencia de expresión de p16) y también en el conjunto de los casos (grado II y grado III). En el análisis de los oligodendrogliomas de grado II la diferencia no alcanzó la significación estadística (10.86 años vs 13.35 años).

En cuanto a ciclina D1 hemos encontrado expresión de ciclina D1 tanto en oligodendrogliomas grado II como grado III. Hemos objetivado una mayor expresión de ciclina D1 en los oligodendrogliomas de grado III. La ausencia de expresión en los oligodendrogliomas de grado II fue del 71% y la ausencia de expresión en los oligodendrogliomas de grado III fue del 32%.

También se ha analizado el valor pronóstico de la expresión de ciclina D1.

Se ha considerado alta expresión de D1 cuando había expresión por encima del 25%.

Hemos encontrado que existe una correlación entre esta sobreexpresión y un peor pronóstico, en el conjunto de la serie y en los oligodendrogliomas grado II (mediana de 6.31 años frente a 12.73 años). Por último, en esta vía de las ciclinas, se ha encontrado expresión por inmunohistoquímica de pRb en prácticamente todos los casos excepto en 5 pacientes.

Índice:

1. Introducción

- 1.1 Anatomía Patológica en los tumores cerebrales.**
- 1.2 Biología molecular: conocimientos actuales en los tumores cerebrales.**
- 1.3 Función biológica de estos marcadores, ¿Cuál es su papel en la célula en condiciones de normalidad y patológico?.**
- 1.4 Clasificación de la OMS 2016. Cambios introducidos respecto a la clasificación previa.**
- 1.5 Algoritmos diagnósticos para la clasificación de la OMS 2016.**
- 1.6 Vía de las ciclinas**
 - 1.6.1 Descripción de la vía de las ciclinas.**
 - 1.6.2 Vía de las ciclinas en oligodendrogliomas.**
- 1.7 Oligodendrogliomas grado II. Principales estudios clínicos**
- 1.8 Oligodendrogliomas grado III. Principales estudios clínicos**

2. Hipótesis y objetivos

- 2.1 Hipótesis**
- 2.2. Objetivos**

3. Material y métodos

4. Resultados

- 4.1 Datos clínicos de la cohorte inicial.**
- 4.2 Datos clínicos de la cohorte tras aplicar los criterios moleculares de la OMS 2016. Cohorte reclasificada:**
 - 4.2.1 Características clínicas de la cohorte global por criterios de la OMS 2016.**
 - 4.2.2 Primera progresión: características, tratamiento y evolución.**
 - 4.2.3 Comparación de datos de la cohorte inicial y la cohorte reclasificada.**
 - 4.2.4 Reclasificación de los tumores considerados como oligoastrocitomas en la clasificación anterior a 2016.**
 - 4.2.5 Resultados de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado II en la cohorte reclasificada.**

- 4.2.5.1 **Oligodendrogliomas de grado II: evolución según el tratamiento quirúrgico.**
- 4.2.5.2 **Oligodendrogliomas de grado II: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia libre de progresión.**
- 4.2.5.3 **Oligodendrogliomas de grado II: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia global.**
- 4.2.6 **Resultados de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado III en la cohorte reclasificada.**
 - 4.2.6.1 **Oligodendrogliomas de grado III: evolución según el tratamiento quirúrgico.**
 - 4.2.6.2 **Oligodendrogliomas de grado III: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia libre de progresión.**
 - 4.2.6.3 **Oligodendrogliomas de grado III: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia global.**
- 4.3 **Datos moleculares de la cohorte tras aplicar los criterios de la OMS 2016. Cohorte reclasificada:**
 - 4.3.1 **Proceso de reclasificación según criterios de la OMS 2016.**
 - 4.3.2 **Datos moleculares de la cohorte reclasificada.**
 - 4.3.3 **Análisis de la vía de las ciclinas en la cohorte reclasificada.**
 - 4.3.3.1 **Expresión de p16 por IHQ. Expresión de p16 en el total de la muestra.**
 - 4.3.3.2 **Expresión de p16 en los oligodendrogliomas grado II.**
 - 4.3.3.3 **Expresión de p16 en oligodendrogliomas grado III.**
 - 4.3.3.4 **Análisis multivariante y ausencia de expresión de p16.**
 - 4.3.3.5 **Sobreexpresión de p16.**
 - 4.3.3.6 **Expresión de p16 y proliferación microvascular, necrosis y captación de contraste en la RM.**

- 4.3.3.7 Expresión de ciclina D1.
- 4.3.3.8 Expresión de ciclina D1 y su impacto pronóstico.
- 4.3.3.9 Expresión de Rb.

5. Discusión

- 5.1. **Discusión de los datos clínicos de la cohorte inicial**
- 5.2. **Discusión de los datos clínicos de la cohorte tras aplicar los criterios moleculares de la OMS 2016. Cohorte reclasificada:**
 - 5.2.1. **Características clínicas de la cohorte global por criterios de la OMS 2016.**
 - 5.2.2. **Primera progresión: Características, tratamiento y evolución.**
 - 5.2.3. **Comparación de los datos clínicos de la cohorte y la cohorte reclasificada**
 - 5.2.4. **Reclasificación de los tumores considerados como oligoastrocitomas en la clasificación anterior a 2016.**
 - 5.2.5. **Discusión de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado II en la cohorte reclasificada.**
 - 5.2.6. **Discusión de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado III en la cohorte reclasificada.**
- 5.3. **Discusión de los datos moleculares de la cohorte tras aplicar los criterios de la OMS de 2016. Cohorte reclasificada:**
 - 5.3.1. **Discusión del proceso de reclasificación según los criterios de la OMS 2016**
 - 5.3.2. **Discusión de los datos moleculares de la cohorte reclasificada.**
 - 5.3.3. **Discusión de los datos de la vía de las ciclinas en la cohorte reclasificada.**

6. Bibliografía

7. Anexos

INTRODUCCIÓN

1 Introducción

- 1.1 Anatomía Patológica en los tumores cerebrales
- 1.2 Biología molecular: conocimientos actuales en los tumores cerebrales
- 1.3 Función biológica de estos marcadores, ¿Cuál es su papel en la célula en condiciones de normalidad y patológico?
- 1.4 Clasificación de la OMS 2016. Cambios introducidos respecto a la clasificación previa
- 1.5 Algoritmos diagnósticos para la clasificación de la OMS 2016
- 1.6 Vía de las ciclinas
 - 1.6.1 Descripción de la vía de las ciclinas
 - 1.6.2 Vía de las ciclinas en oligodendrogliomas
- 1.7 Oligodendrogliomas grado II. Principales estudios clínicos
- 1.8 Oligodendrogliomas grado III. Principales estudios clínicos

1.1 Anatomía Patológica en los tumores cerebrales.

La clasificación anatomopatológica de todos los tumores del organismo se hace siguiendo las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Actualmente en el Sistema Nervioso Central (SNC) se sigue la clasificación de la OMS de 2016. La clasificación previa de los tumores del SNC data de 2007.

La OMS clasifica los tumores en diferentes tipos histológicos y diferentes grados de malignidad, sabiendo que el tipo histológico hace referencia a la célula normal del SNC a la cual remeda morfológicamente la célula tumoral y el grado de malignidad se clasifica de I a IV siendo el I el grado más benigno y el IV el grado más maligno. Estos criterios se utilizan para clasificar todos los tumores del SNC, no solo los gliomas

La OMS ha dividido los tumores del SNC en tumores neuroepiteliales, tumores del nervio periférico, tumores de las meninges, linfomas y neoplasias hematopoyéticas, tumores de células germinales y tumores de la región selar.

Dentro de los tumores neuroepiteliales están los tumores astrocitarios, los tumores oligodendrogiales, los mixtos, los tumores endimarios, tumores de los plexos coroides, tumores neuronales y neurogliales, tumores neuroblásticos, tumores de la glándula pineal, tumores embrionarios y tumores gliales de origen incierto.

WHO classification of tumours of the central nervous system

Diffuse astrocytic and oligodendroglial tumours		Neuronal and mixed neuronal-glial tumours	
Diffuse astrocytoma, IDH-mutant	9400/3	Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	9413/0
Gemistocytic astrocytoma, IDH-mutant	9411/3	Gangliocytoma	9492/0
<i>Diffuse astrocytoma, IDH-wildtype</i>	9400/3	Ganglioglioma	9505/1
Diffuse astrocytoma, NOS	9400/3	Anaplastic ganglioglioma	9505/3
Anaplastic astrocytoma, IDH-mutant	9401/3	Dysplastic cerebellar gangliocytoma (Lhermitte-Duclos disease)	9493/0
<i>Anaplastic astrocytoma, IDH-wildtype</i>	9401/3	Desmoplastic infantile astrocytoma and ganglioglioma	9412/1
Anaplastic astrocytoma, NOS	9401/3	Papillary glioneuronal tumour	9509/1
Glioblastoma, IDH-wildtype	9440/3	Rosette-forming glioneuronal tumour	9509/1
Giant cell glioblastoma	9441/3	<i>Diffuse leptomeningeal glioneuronal tumour</i>	
Gliosarcoma	9442/3	Central neurocytoma	9506/1
<i>Epithelioid glioblastoma</i>	9440/3	Extraventricular neurocytoma	9506/1
Glioblastoma, IDH-mutant	9445/3*	Cerebellar liponeurocytoma	9506/1
Glioblastoma, NOS	9440/3	Paraganglioma	8693/1
Diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant	9385/3*	Tumours of the pineal region	
Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9450/3	Pineocytoma	9361/1
Oligodendroglioma, NOS	9450/3	Pineal parenchymal tumour of intermediate differentiation	9362/3
Anaplastic oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9451/3	Pineoblastoma	9362/3
<i>Anaplastic oligodendroglioma, NOS</i>	9451/3	Papillary tumour of the pineal region	9395/3
<i>Oligoastrocytoma, NOS</i>	9382/3	Embryonal tumours	
<i>Anaplastic oligoastrocytoma, NOS</i>	9382/3	Medulloblastomas, genetically defined	
Other astrocytic tumours		Medulloblastoma, WNT-activated	9475/3*
Pilocytic astrocytoma	9421/1	Medulloblastoma, SHH-activated and TP53-mutant	9476/3*
Piloxyoid astrocytoma	9425/3	Medulloblastoma, SHH-activated and TP53- wildtype	9471/3
Subependymal giant cell astrocytoma	9384/1	Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH	9477/3*
Pleomorphic xanthoastrocytoma	9424/3	<i>Medulloblastoma, group 3</i>	
Anaplastic pleomorphic xanthoastrocytoma	9424/3	<i>Medulloblastoma, group 4</i>	
Ependymal tumours		Medulloblastomas, histologically defined	
Subependymoma	9383/1	Medulloblastoma, classic	9470/3
Myxopapillary ependymoma	9394/1	Medulloblastoma, desmoplastic/nodular	9471/3
Ependymoma	9391/3	Medulloblastoma with extensive nodularity	9471/3
Papillary ependymoma	9393/3	Medulloblastoma, large cell / anaplastic	9474/3
Clear cell ependymoma	9391/3	Medulloblastoma, NOS	9470/3
Tanycytic ependymoma	9391/3	Embryonal tumour with multilayered rosettes, C19MC-altered	9478/3*
Ependymoma, <i>RELA</i> fusion-positive	9396/3*	<i>Embryonal tumour with multilayered rosettes, NOS</i>	9478/3
Anaplastic ependymoma	9392/3	Medulloepithelioma	9501/3
Other gliomas		CNS neuroblastoma	9500/3
Chordoid glioma of the third ventricle	9444/1	CNS ganglioneuroblastoma	9490/3
Angiocentric glioma	9431/1	CNS embryonal tumour, NOS	9473/3
Astroblastoma	9430/3	Atypical teratoid/rhabdoid tumour	9508/3
Choroid plexus tumours		<i>CNS embryonal tumour with rhabdoid features</i>	9508/3
Choroid plexus papilloma	9390/0	Tumours of the cranial and paraspinal nerves	
Atypical choroid plexus papilloma	9390/1	Schwannoma	9560/0
Choroid plexus carcinoma	9390/3	Cellular schwannoma	9560/0
		Plexiform schwannoma	9560/0

Vamos a centrarnos ahora en los gliomas. Siguiendo el esquema de tipos histológicos, los gliomas son tumores que remedan a la glía. Por tipos histológicos si se parecen a las células astrocitarias se llamarían astrocitomas, si se parecen a los oligodendrocitos se llaman oligodendrogliomas (OD) y si tienen células de uno y otro tipo, los llamamos tumores oligoastrocitarios (ya veremos que actualmente no se considera ya esta entidad), y cuando se parecen a las células del epéndimo o su especialización que son las células del plexo coroideo son los tumores ependimarios y los del plexo coroideo.

Pero normalmente cuando hablamos de gliomas, nos referimos solo al astrocitoma, oligodendroglioma (OD) o bien oligoastrocitoma (OA).

En adelante, al referirnos a los gliomas difusos, vamos a excluir a otras entidades, ya sean otros tumores neuroepiteliales (los ependimomas, del plexo coroideo y otros tumores neuroepiteliales), así como otros gliomas que se consideran circunscritos (como el astrocitoma subependimario de células gigantes, típico de la esclerosis tuberosa, los astrocitomas pilocitos con su variante el astrocitoma pilomixioide o el xantocitoma pleomorfo). Estas lesiones no se consideran tumores infiltrantes si no que se consideran gliomas bien circunscritos y son entidades clínico-patológicas muy recortadas, con localizaciones bastante típicas y unas edades de aparición bastante características.

Por definición, todos los gliomas difusos empiezan por un grado II. Por su carácter difuso la resección es difícilmente completa, ya que aparecen células tumorales mucho más allá del núcleo tumoral principal. Por lo tanto, todos los tumores infiltrantes son mínimo, un grado II.

La denominación de las diferentes entidades según el tipo histológico y el grado: En el tipo astrocitario: para un grado II se llama astrocitoma difuso para diferenciarlo de

los astrocitomas bien circunscritos. Cuando es un grado III se llama anaplásico. El grado IV se denomina glioblastoma.

Los oligodendrogliomas, solo hay oligodendrogliomas de grado II y grado III de malignidad, no hay ningún oligodendroglioma que tenga un comportamiento como un grado IV. El grado III se denomina oligodendroglioma anaplásico (ODA).

En cuanto a los oligoastrocitomas, en la clasificación previa del 2007, podían ser de grado II, el oligoastrocitoma, oligoastrocitoma anaplásico o grado III y el grado IV se llamaba glioblastoma con componente oligodendroglioma. En la OMS de 2016, como ya se ha mencionado, esta entidad desaparece, al introducir la información del estudio molecular en el diagnóstico.

Vamos a revisar ahora los aspectos morfológicos más importantes, que permiten definir estas entidades.

El análisis microscópico nos permite reconocer un fenotipo oligodendroglioma.

En los OD de bajo grado, los núcleos son redondos y uniformes. Son frecuentemente lesiones con células próximas, pequeñas y empaquetadas. Sin embargo, en la periferia del tumor se puede apreciar el crecimiento difuso infiltrativo, formando estructuras secundarias como clusters de células tumorales en torno a neuronas preexistentes (satelitosis), debajo de la superficie pial (agregación subpial) y rodeando los pequeños vasos corticales (agregados perivasculares).

Es frecuente la presencia de una red de pequeños capilares y calcificaciones, aunque no suponen datos específicos en los OD.

Además, parte de las células tumorales en los oligodendrogliomas pueden mostrar fenotipo gliofibrilar o minigemistocítico con tinción positiva para proteína ácida fibrilar glial en el citoplasma, o más raramente, morfología en células anillo de sello [1][1] [2].

Los tumores de tipo astrocitario pueden tener varios tipos morfológicos, aunque el patrón fibrilar es el más característico. Están compuestos por células con núcleos hipercromáticos irregulares alargados, a veces sin citoplasma evidente, pero se identifica una matriz fibrilar. Otras veces, estas células pueden tener procesos citoplasmáticos eosinofílicos que se mezclan de forma variable con el neuropilo circundante.

La distinción morfológica principal del astrocitoma difuso del oligodendroglioma se basa en las características citológicas. Los oligodendrogliomas contienen núcleos

regulares redondeados, nucléolos pequeños y halos claros perinucleares. Por el contrario, los núcleos del astrocitoma están agrandados, alargados, irregulares e hipercromáticos.

Para la clasificación según el grado, es de necesario tener en cuenta varias características:

1. Infiltración del parénquima vecino no tumoral
2. Hiper celularidad
3. Atipia citológica
4. Proliferación celular
5. Proliferación microvascular
6. Necrosis

Las cuatro características iniciales describen a los tumores de grado II y la proliferación microvascular y necrosis caracterizan a los tumores de grado III y IV.

Vamos a ver con un poco más de detalle algunas de estas características:

1. Proliferación. La proliferación se mide por el número de mitosis y aumenta también con el grado de malignidad. Otro dato es que la proliferación medida por el Ki67 no es superponible al número de mitosis y no es criterio de la OMS de grado de malignidad (Ki67 mide cuando las células en cualquier fase que no sea G0, no solo la fase M). Sí puede orientar al grado en casos determinados, teniendo en cuenta sus limitaciones como el solapamiento entre grados.
2. Proliferación microvascular. Es la proliferación de células endoteliales y perivasculares formando ovillos similares a glomérulos renales. En el grupo de los gliomas infiltrantes, es una característica propia de los gliomas de alto grado (III, IV).
3. Necrosis. Puede haber necrosis con o sin empalizada. En el grupo de los gliomas infiltrantes es una característica propia de los gliomas de alto grado (III, IV).

Ahora vamos a aplicar estos conceptos en los oligodendrogliomas:

En el oligodendroglioma solo hay dos grados: II y III, no existe el grado IV. Se caracteriza por un aspecto en huevo frito. El grado II ya es hiper celular y tienen unos vasos muy finos y ramificados y muchas veces se observan microcalcificaciones. En el grado III de malignidad aparecen las figuras de mitosis, pero para el oligodendroglioma se requiere 6 mitosis por 10 campos de gran aumento. Como no hay grado IV, tanto la proliferación vascular prominente como la necrosis caen en el grado III.

En cuanto al oligoastrocitoma(OA), en la clasificación morfológica utilizada previamente a la clasificación de 2016 podían tener dos patrones, mostrar áreas más astrocitarias con áreas más oligodendrogliales separadas o bien mostrar elementos que tienen parte de uno o de otro entremezclados. Se llama variante compacta o difusa. En cuanto a los grados se utilizan los mismos que para el oligodendroglioma. El oligoastrocitoma siempre se ha emparentado más con los tumores oligodendrogliales que con los astrocitarios. El único aspecto es que la hiperplasia hipervasculatura entra en el grado de III y la necrosis convierte el oligoastrocitoma en grado IV. La OMS había propuesto el término de “glioblastoma con componente oligodendrogliar” para catalogar los OAA con necrosis, ya que su pronóstico era peor. Esta es una entidad que desapareció en la clasificación de la OMS 2016 al introducir la clasificación molecular. Anteriormente, suponía un problema diagnóstico porque existe una gran subjetividad, con diferencias en el diagnóstico entre distintos observadores. El problema derivaba en decidir si el componente astrocitario es reactivo o tumoral, además el porcentaje de ambos componentes varía según los distintos autores, influyendo el tamaño de la muestra y en estos casos se utilizaba la pérdida de heterocigosidad de 1p y 19q para apoyar el diagnóstico de tumor oligodendrogliar este tumor ^[3].

En el caso de los OD, no hay marcadores inmunohistoquímicos (IHQ) que permitan un reconocimiento específico y sensible del tumor y por otra parte y hay otras lesiones que pueden mostrar zonas de morfología oligodendrogliar que no son oligodendrogliomas como por ejemplo el astrocitoma pilocítico. El hallazgo de las pérdidas alélicas de 1p/19q ha formado parte del diagnóstico de OD, dada la frecuencia de dichas pérdidas en estos tumores ^[4].

Con todo lo dicho previamente, el diagnóstico a veces no era sencillo debido a que la diversa actividad biológica era difícil de captar a nivel microscópico y también porque las muestras no siempre eran representativas. Esto llevaba a una elevada variedad interobservador ^[4].

En la siguiente tabla podemos ver recogidos los datos para la clasificación de los gliomas infiltrantes y cómo la presencia de proliferación microvascular y necrosis define los tumores de más alto grado.

1.2 Biología molecular: conocimientos actuales en los tumores cerebrales

Hasta este momento hemos revisados los criterios morfológicos utilizados para la clasificación de los tumores del SNC. Son los criterios utilizados hasta que se introdujeron los criterios de la OMS de 2016.

Los estudios llevados a cabo en los últimos años han profundizado en las bases genéticas de la tumorigénesis, y en definitiva estos datos se han trasladado a la forma de clasificar estos tumores, tal como ha quedado establecido en la clasificación de la OMS de 2016.

Por el momento, esta clasificación se considera una actualización de la 4ª edición de 2007 más que una 5ª edición ^[5]. Próximamente, a medianos del 2021-2022 se espera una nueva clasificación de la OMS de tumores del SNC.

Esta nueva clasificación de 2016 rompe con las características establecidas para el diagnóstico de estos tumores en el último siglo, basadas en las características morfológicas observadas al microscopio, y se incorporan ahora datos moleculares para la clasificación de estos tumores.

De hecho, como hemos revisado, en la edición previa de la OMS de 2007 los hallazgos morfológicos eran utilizados para clasificar a los pacientes en las diferentes entidades.

En la edición de la OMS de 2016, se han incluido biomarcadores moleculares, además de los hallazgos histológicos descritos previamente para establecer las distintas categorías diagnósticas. Se ha denominado diagnóstico integrado, teniendo en cuenta características morfológicas y características moleculares.

Esto ha llevado a un mayor grado de objetividad y en la clasificación de estos tumores, así como mayor precisión para el pronóstico y tratamiento.

La OMS de 2016 propone un nuevo formato de diagnóstico en capas en el cual en una primera capa estaría el diagnóstico de tipo histológico, luego vendría el grado histológico y luego la información molecular. En base a todos estos datos se realizaría lo que se denomina diagnóstico integrado.

Las alteraciones moleculares hasta ahora se utilizaban como factores pronósticos y predictivos de respuesta dentro de una determinada categoría, pero no se utilizaban como criterios diagnósticos, y en esto reside el gran cambio.

Los marcadores moleculares recientemente introducidos son:

Mutaciones en los genes de la isocitrato deshidrogenasa IDH1/2, codeleción de 1p/19q, mutaciones en el gen de alpha thalasemia/mental retardation síndrome X-linked (ATRX) y mutaciones en el promotor de la telomerasa transcriptasa reversa (TERT) y alteraciones en p53.

Más adelante vamos a revisar la base científica para la introducción de estos marcadores en el diagnóstico de estos tumores [6].

1) IDH1/IDH2

- Desarrollo e incidencia de la mutación

Las mutaciones de IDH1/2 (gen de isocitrato deshidrogenasa 1) se describieron por primera vez en el año 2008 por Pearson et al en un estudio donde se secuenciaron glioblastomas de forma masiva (149 casos).

Se observó la presencia de la mutación de IDH1 en una pequeña proporción de casos (18 de 149), y se relacionaba con los glioblastomas llamados previamente secundarios, se daba en personas más jóvenes y presentaban una mejor supervivencia [7].

En los gliomas difusos de grado II y III se han encontrado mutaciones en IDH1 (IDH1mut) en una frecuencia entre el 60-80% de los casos.

Se ha encontrado mutación de IDH2 (IDH2mut) entre un 2-5% de los gliomas infiltrantes y las mutaciones en IDH1 e IDH2 son mutuamente excluyentes.

Todas las mutaciones de *IDH1* implican al codón 132, sobre todo, la mas habitual es la mutación p.R132H (90% de los casos)

Las mutaciones de *IDH2* se dan en el codón 172, siendo la más habitual la p.R172K. Estudios más recientes han señalado que la mutación en IDH es un evento temprano en la gliomagénesis (“es una mutación driver”) y precede a la delección de 1p/19q, siendo este último el que posiblemente lleve a un fenotipo de tipo oligodendroglial mientras que mutaciones en TP53 y ATRX conduzcan a un fenotipo más de tipo astrocitario.

Las mutaciones en IDH, por otra parte, se asocia a un perfil hipermetilador (G-CIMP-CpG Island Methylator Phenotype) y a la metilación del promotor de la O⁶-metilguanina-DNA metil-transferasa (MGMT)^{[8][9]}.

- Papel en el diagnóstico:

Dentro de los tumores primarios del SNC, las mutaciones de *IDH* exclusivas de los gliomas infiltrantes. Las proliferaciones gliales reactivas tampoco presentan mutaciones de estos genes.

Se han descrito mutaciones en IDH en otros tumores a parte del SNC: colangiocarcinoma intrahepático, condrosarcoma leucemia mielóide aguda, linfoma T angioinmunoblástico, melanoma maligno y carcinoma anaplásico de tiroides y en otros tipos de neoplasias (mas raro)^[10] .

- Función en la célula:

IDH1 es una enzima que participa en el ciclo de Krebs, la principal vía metabólica que utilizan los organismos aerobios para generar energía. Las mutaciones en esta enzima conllevan alteraciones en el metabolismo, incluyendo el aumento de 2-hydroxyglutarato (2-HG), que induce un fenotipo de glioma hipermetilado (G-CIMP). Esto lleva a una serie de remodelaciones de la cromatina y a alteraciones transcripcionales.

- Papel pronóstico:

Se conoce además que IDH tiene implicaciones pronósticas en gliomas difusos y además es un factor predictivo de beneficio de la quimioterapia en pacientes con oligodendroglioma anaplásico, los pacientes con mutación en IDH sin codelección tienen peor pronóstico que los que tienen mutación en IDH y codelección de 1p/19q, pero tienen mejor pronóstico que aquellos que no tienen mutación en IDH^{[11] [12]}.

- Técnica para su determinación:

Existe un anticuerpo comercializado contra la proteína IDH-1 p.R132H y se puede utilizar en tejido incluido en parafina. El anticuerpo anti IDH1-R1232H detecta la

forma mutada de la proteína, por lo que inmunohistoquímica (IHQ) positiva indica que existe mutación en el gen IDH1(R132H).

Las recomendaciones actuales son iniciar el estudio con la detección IHQ de la proteína mutada y, en caso de que ésta resultara negativa, completarlo con el estudio por secuenciación de los genes *IDH1* e *IDH2*.

Por lo tanto, las mutaciones en IDH pueden tener un papel como marcador diagnóstico, ya que las mutaciones en IDH son específicas de gliomas infiltrantes y permite hacer un diagnóstico diferencial con otras entidades ya sean tumorales o reactivas.

Asimismo, las mutaciones en IDH también tienen un papel pronóstico en los diferentes tipos histológicos y grados de malignidad.

Tanto en los gliomas de grado II como grado III la ausencia de mutaciones en IDH se asocia a un peor pronóstico.

2) CODELECIÓN DE 1p/19q

- Desarrollo e incidencia

En los años 90 se observó que muchos tumores oligodendrogiales tenían pérdida de heterocigosidad (LOH) para 1p y 19q. Posteriormente se observó que se debía a la traslocación t(1:19)(q10:p10) con la consecuente pérdida de uno de los cromosomas. Esta alteración tiene relevancia clínica al estar asociada a una mayor sensibilidad a la quimioterapia y mejor pronóstico. Este hecho se demostró en un estudio llevado a cabo por Cairncross et al en que observaron que en oligodendrogliomas anaplásicos esta alteración se relacionaba con una mayor respuesta a la quimioterapia con PCV (procarbazona, CCNU, Vincristina). Esto se vino a confirmar en estudios posteriores más grandes, randomizados y prospectivos, donde se verificó una mayor sensibilidad a la quimioterapia y también un aumento de la supervivencia global ^[13] ^[14].

- Papel diagnóstico

La codelección de 1p/19q (1p/19q code) se correlaciona de manera casi exclusiva con una histología oligodendrogial y por tanto la determinación de 1p/19q tiene un papel a nivel diagnóstico ya que facilita el diagnóstico diferencial con aquellas patologías que puedan tener una morfología oligodendrogial.

También en los casos de glioma infiltrante con morfología mixta oligoastrocitaria permite definir el caso como astrocitario o bien oligodendrogial.

La codeleción de 1p/19q se asocia a mutaciones de *IDH* y del promotor de *TERT* en los tumores oligodendrogliales, y existe una correlación inversa entre la mutación de *IDH* y las mutaciones de *TP53* y *ATRX*, y la amplificación del factor de crecimiento epidérmico (*EGFR*). La mayoría de los gliomas con codeleción de 1p/19q muestran un perfil G-CIMP y se incluyen en el subtipo proneural de la clasificación de los gliomas [15].

La mayoría de los oligodendrogliomas con codeleción de 1p/19q tienen mutaciones en el gen *CIC* (un ortólogo del gen capicúa de *Drosophila*, situado en 19q) y en menor grado (15%) en el gen *FUBP1* (situado en 1p). Esta asociación sugiere que esta pérdida cromosómica puede contribuir a la inactivación de estos genes. El papel de estos genes en el desarrollo del oligodendroglioma es todavía desconocido.

- Técnicas para su determinación:

El estudio de 1p/19q puede realizarse por el análisis de la pérdida de heterocigosidad (LOH), por estudio de microsatélites y la hibridación *in situ* fluorescente (FISH). La tasa de correlación entre estas técnicas es muy elevada. Es la técnica FISH la más comúnmente empleada.

3) La mutación de *ATRX*

Otra alteración descrita en el área de los gliomas infiltrantes es la presencia de mutaciones en *ATRX* (del inglés *α -thalasemia/mental retardation-syndrome-X-linked*), que es otro mecanismo conocido para el mantenimiento de la longitud de los telómeros mediante el denominado ALT (del inglés *alternate lengthening telomeres*).

Las mutaciones en *ATRX* (*ATRXm*) se observan en los tumores de estirpe astrocitaria, se correlaciona con las mutaciones de *IDH1* y *TP53*. Está ausente en oligodendrogliomas y glioblastoma primario (4%).

- Papel diagnóstico

La detección de la mutación en *ATRX* puede ser de utilidad para establecer un diagnóstico diferencial con otras entidades que no tienen esta mutación, como el astrocitoma pilocítico.

Por otra parte, también hay que tener en cuenta que las mutaciones de *ATRX* son mutuamente excluyentes con las mutaciones en *TERT*.

- Técnica para su determinación

La técnica diagnóstica habitualmente empleada es la IHQ. El anticuerpo que se emplea en la práctica clínica diaria marca la forma nativa de la proteína, por lo que la positividad para ATRX significa la ausencia de mutación de ATRX, y en el caso de existir mutación, la tinción IHQ será negativa.

4) La mutación del promotor de *TERT*

Los gliomas infiltrantes se asocian con alteraciones en el gen de la telomerasa transcriptasa inversa (*TERT*).

El acortamiento en la longitud de los telómeros se produce en las células del organismo con cada ciclo de división celular, y es un factor que resulta clave para el mantenimiento de la inmortalidad de las células tumorales. Para ello las células neoplásicas precisan mantener la longitud de los telómeros. Las alteraciones en el gen de *TERT* conllevarían a ese mantenimiento.

La alteración más frecuente que se ha encontrado son las mutaciones en el promotor del gen de *TERT* (*TERTm*).

En tumores el SNC se ha descrito en los gliomas infiltrantes (oligodendrogliomas y glioblastomas), en meduloblastoma y meningioma.

Esta mutación se ha encontrado en un 50-75% de los glioblastomas IDH no mutados, y un 75% aproximadamente de los oligodendrogliomas (grado II o III).

En este sentido hay que tener en cuenta que en los tumores astrocitarios grado II y III, presentan más habitualmente mutaciones en *ATRX* que es otro mecanismo implicado en el mantenimiento de la longitud de los telómeros.

- Técnica para su determinación:

La determinación de *TERTm* suele hacerse mediante secuenciación.

Puede tener un papel en el diagnóstico diferencial de los gliomas infiltrantes del SNC.

5) METILACIÓN DEL PROMOTOR DE *MGMT* Y *G-CIMP*

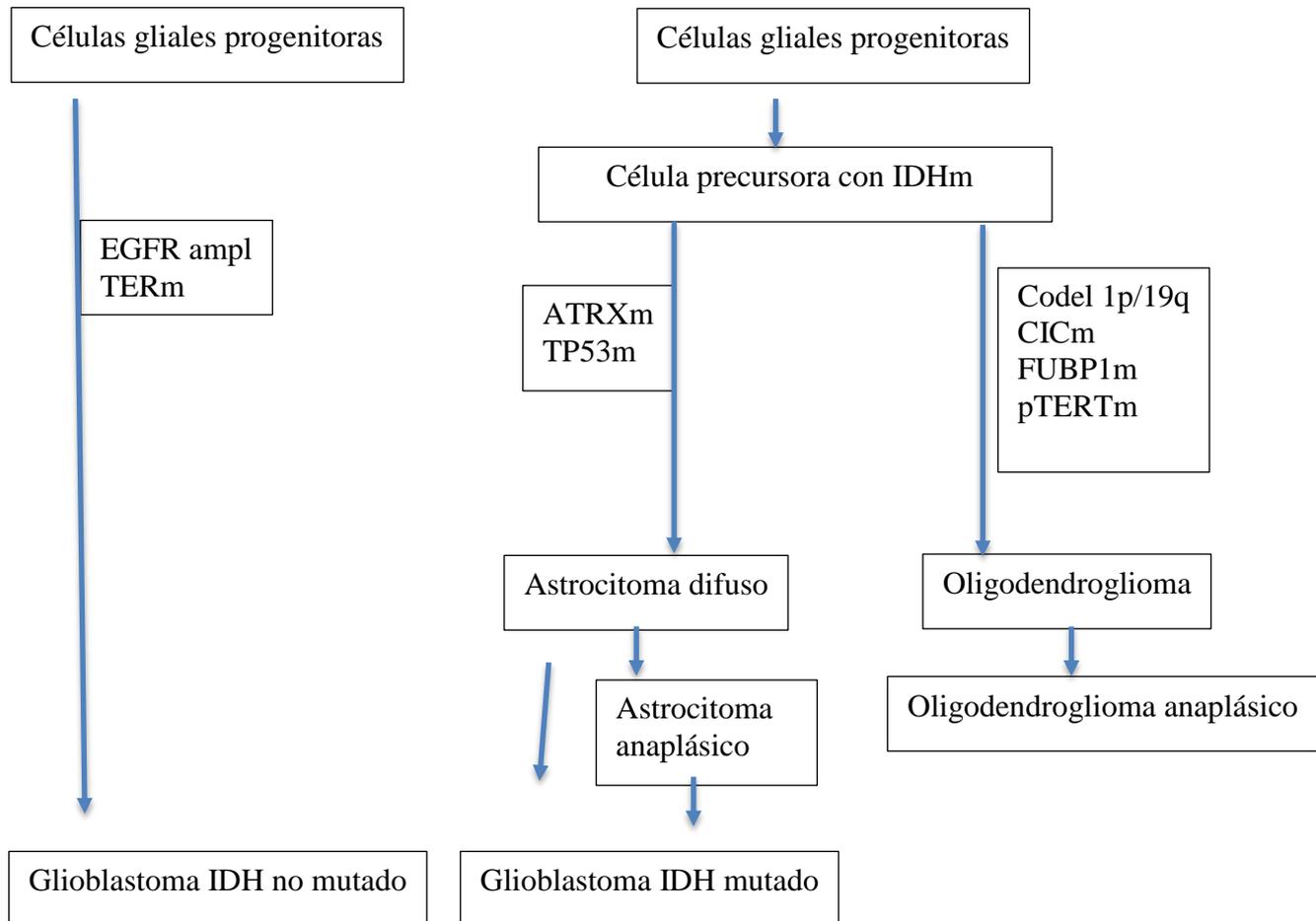
En los casos con IDH mutado, la presencia de la metilación del promotor de *MGMT* esta ligada a los tumores con fenotipo *G-CIMP*.

En estos casos se puede observar metilación en un amplio numero de genes, entre los que podríamos encontrar a *MGMT*^[16].

Relación entre las distintas alteraciones moleculares

Las alteraciones moleculares descritas se encuentran relacionadas entre sí como a hemos revisado previamente.

En el siguiente esquema podemos sintetizar esas relaciones (Ohgaki et al,2012)



1.3 Función biológica de estos marcadores, ¿Cuál es su papel en la célula en condiciones de normalidad y patológico?

FUNCIÓN BIOLÓGICA DE IDH, ATRX Y TERT

Vamos a revisar los principales avances en los conocimientos moleculares y la función biológica que los siguientes marcadores tienen en la célula de forma habitual:

1) IDH y sus isoformas; 2) ATRX y TERT.

1) IDH

Vamos a revisar estas mutaciones en IDH:

En el año 2008 se dieron a conocer los primeros datos IDH en gliomas a raíz de un estudio que había empezado 2 años antes, el Genoma Atlas. En este estudio se analizó tanto la expresión RNA, DNA y estudio epigenético en un gran número de pacientes, la mayoría con glioblastomas.

El primer trabajo publicado de este estudio, tras secuenciar 149 casos de glioblastoma, un 12% de ellos presentaban mutación en el gen que codifica para IDH 1 y además se observó que tenían mejor pronóstico que aquellos que no tenían mutación ^[7].

Después se publicó un estudio más amplio, incluyendo diferentes tipos de los tumores cerebrales y se observó que este tipo de alteraciones en IDH1/IDH2 son muy frecuentes en los tumores gliales, astrocitarios y oligodendroglioma. Son más frecuentes en los en astrocitomas de bajo grado y en los oligodengliomas ^[17].

También se analizó si este tipo de mutaciones estaba presente en otro tipo de tumores que no fuesen los tumores del SNC y se pudo observar que existían mutaciones en este gen en otras patologías como en el colangiocarcinoma intrahepático, y algún tipo de tumor cartilaginoso y en un porcentaje de casos de leucemia aguda.

Se analizaron, asimismo, qué tipo de mutaciones tenían los gliomas:

en más del 95% de las mutaciones de IDH1 era una mutación puntual en el residuo 132 y cuando la mutación era en IDH2 era en el residuo arginina 172.

Estas dos enzimas (IDH1/2) son enzimas que forman parte del metabolismo de la célula. IDH1 se encuentra en citoplasma e IDH2 en mitocondria y además estos residuos el 132 en IDH1 y 172 en IDH2 alteran el funcionamiento de la enzima de la misma forma.

Sin embargo, cuando se estudió en estos otros tumores no del sistema nervioso, se observó que raramente tenían mutaciones en el mismo residuo 132 o 172 de IDH.

Vamos a analizar la función que tiene este gen en la célula: IDH 1 se encuentra en la célula en el citoplasma e IDH2 en la mitocondria, lo que hace es catalizar el paso de isocitrato a alfa-ketoglutarato. Alfa-ketoglutarato es una enzima que regula procesos que participan en el control epigenético del DNA, es decir, en el control de la metilación o desmetilación del DNA.

Se conoce también que la fuente de esta vía metabólica es la entrada de glutamato o glutamina a las células gliales, que provienen del espacio extracelular.

De forma normal, esta transformación del isocitrato a alfa-ketoglutarato se acompaña también de un aumento de pH lo cual significa un aumento de poder reductor con lo que de alguna manera disminuye el estrés celular y está asociado a una mejor supervivencia de la célula.

Se conoce que cuando se produce la mutación, la función del gen se conserva y aparecen distintas teorías sobre si el gen actúa como oncogen o como gen supresor.

La teoría más desarrollada es que este gen mutado conserva la función del gen wild type (WT) pero esta función está algo disminuida, con menos alfa-ketoglutarato, menos pH y disminuye la capacidad de reducción oxidativo y esto por sí mismo puede ser una causa que aumenta la tumorigénesis.

Sin embargo, se conoce también que hay una ganancia de función, es decir una nueva función enzimática aparece en estas células que hace que el alfa-ketoglutarato se convierta en 2-hidroxiglutarato, este inicialmente se había relacionado con aumento HIF 1 alfa y esto a una mayor tumorigénesis.

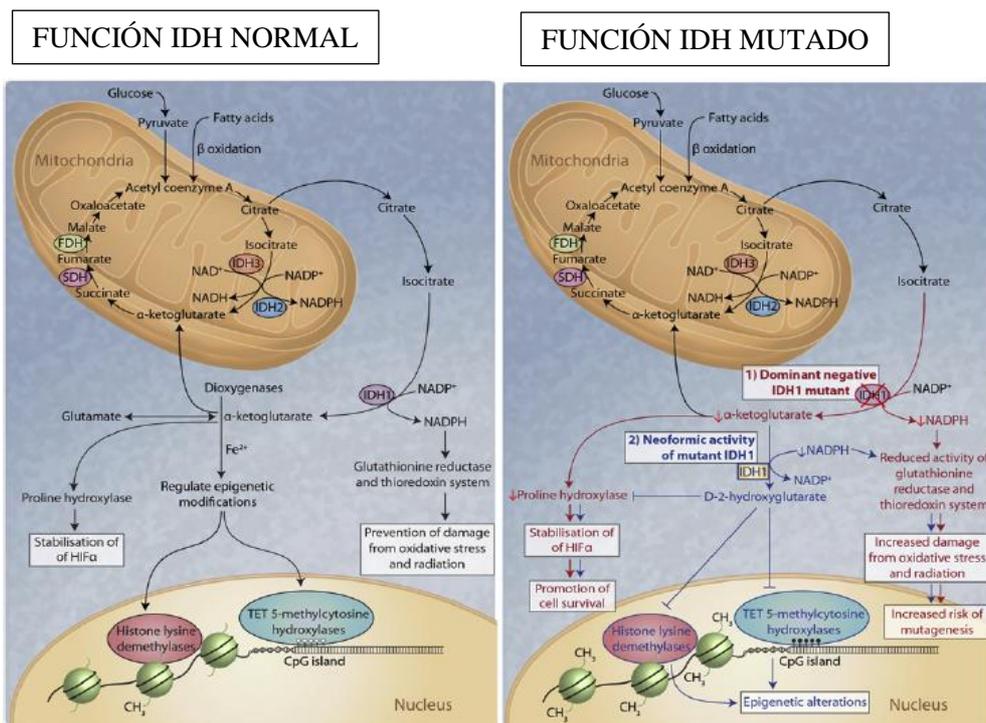
Pero esto era algo sorprendente porque la mutación en IDH1 se asocia a un mejor pronóstico aquí había una contradicción.

Sin embargo, los estudios que se han ido desarrollando han subrayado la importancia de otro aspecto vinculado al aumento de 2 hidroxiglutarato y es que se pudo observar que este aumento de 2hidroxiglutarato compite con alfa ketoglutarato en los procesos de metilación del DNA. De esta forma, 2hidroxiglutarato inhibe enzimas como la

histona demetilasa o DNA hidroxilasa y hace que cambie el perfil de metilación del DNA en el tumor.

Y este punto se considera de mayor relevancia que la disminución del estrés oxidativo y de aumento de HIF alfa.

Los estudios han detectado un aumento de hidroxiglutarato asociado a la mutación de IDH.



Gupta et al. J Clin Pathol 2001

En resumen, hoy conocemos que tenemos 3 enzimas diferentes IDH1, 2 y 3.

IDH1 a nivel de citoplasma e IDH 2 y 3 a nivel de mitocondria. Todas ellas tienen la misma función, que es transformar isocitrato en alfa ketoglutarato y NADPH.

Por tanto, IDH está implicado en la transformación de isocitrato a alfa ketoglutarato.

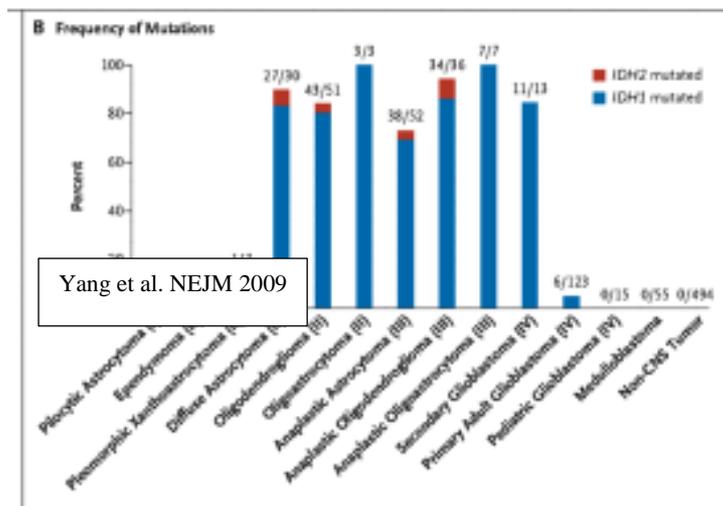
El alfa ketoglutarato a su vez:

- Regula la degradación del Factor 1-alfa inducible por hipoxia (HIF1) y
- Es cosustrato para diversas enzimas dioxigenasas que regulan modificaciones epigenéticas.

La mutación de IDH ¿qué conlleva?

- 1) Inhibe el funcionamiento óptimo de IDH y como consecuencia disminuye alfaetoglutarato y NADPH.
 - a. Esto dificulta la degradación de HIF1 y promueve supervivencia celular.
 - b. Disminuya la formación de NADPH y aumenta el riesgo de estrés oxidativo y mutagénesis.
- 2) IDH1 adquiere una nueva actividad que lleva a la producción de hidroxiglutarato que inhibe de forma competitiva las enzimas necesarias para una óptima regulación de las alteraciones epigenéticas.

Tras observar la presencia de la mutación de IDH en un subgrupo de glioblastoma de mejor pronóstico, se realizó un estudio (publicado en el New England Journal of Medicine- NEJM- en 2009, donde se secuenció IDH1 e IDH2 en 445 tumores del SNC y 494 tumores no SNC. Se identificó la mutación en 70% de los tumores astrocitarios y oligodendrogliomas grado II y III y en glioblastomas dearrollados a partir de lesiones de bajo grado [18].



Otro aspecto que se ha estudiado desde el punto de vista molecular en los tumores cerebrales es el de la situación de metilación del DNA.

Esto se ha relacionado con la hipermetilación de las islas CpG, que se asocian a silenciación de la expresión génica.

Del mismo estudio del TCGA se ha hecho un subestudio mirando el perfil de metilación que presentaban los casos con glioblastoma. Se ha analizado la metilación

de las regiones CpG que corresponden a las regiones de promotores de distintos genes, y se pudo observar que había perfiles de metilación, algunos estaban más metilados y otros menos metilados indicando la existencia de un glioma - CpG Island Methylator Phenotype (G-CIMP).

Otro aspecto que pudo observarse es que existía una fuerte asociación entre IDH mutado y los tumores G-CIMP positivos.

Noushmer et al analizaron 60 pacientes con gliomas de grado II y 90 pacientes grado III. Se ha podido observar que, comparado con GB, estos tumores tenían un incremento de 10 veces de G-CIMP positivo, y los grado III una proporción intermedia. Al realizar el análisis por tipo histológico, G-CIMP era el doble de frecuente en el tipo oligodendrogial comparado con el astrocitario. Los datos indicaban además una mejor supervivencia en estos tumores [16].

Otro estudio publicado en Nature ha podido demostrar que el hecho de tener mutación en IDH1 es un factor suficiente para establecer este perfil metilador.

Esto enlaza con lo descrito previamente respecto a los cambios de función en el caso de mutación en IDH: este aumento del nuevo metabolito, 2hidroxiglutarato, que compite con alfaetoglutarato, favorece la metilación del DNA [19].

2) ATRX y TERT

Determinados marcadores utilizados actualmente en el área de la neurooncología como histona 3, IDH, TERT y ATRX tienen en común que afectan a la organización de la cromatina.

Desde el punto de vista de las alteraciones moleculares, estamos más acostumbrados a hablar de mutaciones y alteraciones de genes, pero aquí tiene más que ver con la organización de la cromatina, ya sea por la regulación epigenética y la expresión génica, ya sea por la integridad cromosómica.

Los telómeros y la telomerasa:

Los telómeros son los extremos de los cromosomas. Los extremos del DNA si estuvieran desnudos, serían muy reactivos, tienden a recombinarse y a unirse entre ellos. Si no hubiera una protección a nivel de los extremos, estos se fusionarían y se producirían aberraciones cromosómicas.

Por esta razón existe, a nivel del cromosoma, una secuencia muy larga repetitiva rica en guaninas desoxinucleótidos que acaba en un saliente de cadena sencilla, esta estructura es capaz de unirse a una serie de proteínas, las shelterinas, y este

complejo actúa como si fuera el final del cordón de un zapato, evitando que se unan dos cromosomas entre sí.

Por otra parte, el nivel final de los cromosomas (los telómeros), es un problema para la replicación del DNA, ya que la DNA polimerasa tiene que copiar una molécula de DNA madre y no es capaz de empezar de cero pero necesita una pequeña región de doble cadena, esta zona de doble cadena la aporta un cebador de RNA, una pequeña molécula de RNA que se hace complementario al extremo del telómero, y a partir de aquí la DNA polimerasa puede empezar a sintetizar la hebra hija y a final el cebador de RNA se elimina, pero si esto de alguna manera no se repara, tenemos una hebra hija que será más corta que la progenitora, y a partir de aquí si la hebra hija, en un nuevo proceso de división celular lo tuviera como molde tendríamos otra vez una secuencia aún más corta y así, a lo largo de las generaciones los telómeros se irían acortando, hasta que no tuvieran esta estructura de protección final de los cromosomas y también se acabaría afectando la integridad de los genes subteloméricos.

Para evitar esta situación actúa la telomerasa.

Es, por tanto, un complejo que está formado por una subunidad catalítica y un fragmento que es una cadena pequeña de RNA que es complementaria al DNA repetitivo del final de los telómeros. De manera que el complejo es capaz de unirse por complementariedad de bases al final de los telómeros y el RNA será utilizado como molde por la unidad catalítica para alargar de nuevo el extremo de los telómeros, y de esta manera se evita que se pierda material a lo largo de las replications. Se denomina a las dos subunidades la retrotranscriptasa (TERT) y la molécula de RNA asociada (TERC).

Pero no tenemos telomerasa en todas las células. A nivel de las células germinales la actividad es muy alta pero las células somáticas tienen menos actividad telomerasa.

Por lo tanto, a medida que estas células se van dividiendo, los telómeros se van acortando, en este momento la célula lo detecta y es capaz de frenar la división celular, la célula seguirá viva, pero entrará en senescencia, no seguirá dividiéndose, aunque cumpla sus funciones.

En el caso de las células tumorales si quieren seguir viviendo indefinidamente, esto lo tienen que resolver, de alguna manera tienen que reparar sus telómeros si no, no

podrían seguir proliferando, y esto lo hace generalmente con la reactivación de TERT, es el mecanismo mas frecuente de recuperación de telómeros.

¿como se reactiva TERT en las células tumorales? Hay descrito diferentes mecanismos: cambios epigenéticos, reordenamientos del gen, y también mutaciones en el promotor de TERT. El promotor es el que regula la expresión del gen. Se han descrito dos mutaciones en gliomas, la C250T y 228T. En otros tumores hay otras mutaciones descritas. En los dos casos la mutación lo que origina es una secuencia capaz de unirse a factores de transcripción y esto implica que haya sobreexpresión de nuevo de TERT.

Vía ALT de elongación de los telómeros

Lo descrito anteriormente no es el único mecanismo de elongación de telómeros si no que también hay una vía alternativa, la vía ALT.

Esta vía está basada en mecanismos de recombinación homologa de los dos cromosomas de una pareja, con el cromosoma corto utilizaría como molde el cromosoma largo.

En un 5-10% de los tumores se ha visto esta vía alternativa para elongación de los telómeros. Aunque la prevalencia de este fenotipo ALT es infrecuente en cáncer, sí es habitual en determinados subtipos de tumores entre los que se encuentran los gliomas. Hasta un 75% de los tumores con el promotor de TERT WT usan este mecanismo ALT para el mantenimiento de los telómeros.

Exactamente no se sabe como funciona este mecanismo, como se reactiva en los tumores, pero se sabe que esto está asociado a la perdida de expresión de ATRX.

ATRX:

ATRX se ha caracterizado inicialmente al estudiar el síndrome a-talasemia, retraso mental ligado al X (*ATRX*) en el que se produce alteraciones craneofaciales, anomalías genitales, retraso mental, hipotonía y anemia moderada, asociada a alfa talasemia. El gen *ATRX* sintetiza para una proteína remodeladora de la cromatina SWItch (SWI)/sucrone non-fermenting (SNF)-like. Ese gen presenta mutaciones frecuentes en gliomas.

Los tumores con pérdida de *ATRX* tienen un DNA telomérico largo y está relacionado con esta via ALT, sugiriendo que *ATRX* puede ser un supresor del mecanismo ALT.

Además, la expresión de ATRX está forzada en ALT positivos y en líneas celulares a abolición de ATRX se asocia a abolición del fenotipo ALT.

Sin embargo, se ha visto que la pérdida de ATRX no es suficiente para la activación de ALT. Aquí entra DAXX, que fue inicialmente identificado como una proteína de unión al receptor de muerte Fas, que induce apoptosis mediante la vía JNK.

Analizando los complejos chaperona de la histona H3.3 se ha identificado ATRX y DAXX.

ATRX, en colaboración con DAXX deposita H3.3 en la cromatina a nivel telomérico y pericentromérico para prevenir la formación de cuadruples-G (G4-DNA), un tipo de estructura de DNA que promueve los mecanismos de reparación del DNA mediante la recombinación homóloga.

Esto refuerza el papel de ATRX/DAXX/histona H3.3 en la supresión de la vía ALT

Por otro lado, se ha visto también que ATRX cuando está mutado, la capacidad de reparar rupturas de doble cadena del DNA de la célula está afectada. Para reparar esto la célula tiene dos mecanismos diferentes, uno es de recombinación homóloga que también se utiliza en la vía ALT de los telómeros ^{[20][21]}.

1.4. Clasificación de la OMS 2016. Cambios introducidos respecto a la clasificación previa

Con la publicación de todos estos datos, se ha avanzado hacia una clasificación de los tumores del SNC más basada en criterios moleculares, resultando más precisa y reproducible.

Esta sería una breve revisión histórica de la clasificación de los tumores del SNC:

La primera clasificación de estos tumores fue la de 1926, por Bailey y Cushing y se basaba en variables pronósticas de cada tipo histológico.

En 1949 se hicieron cambios en la clasificación, utilizando los grados de agresividad (en 4 grados) para clasificar a los tumores (Kernohan et al) ^[22].

La clasificación de St Anne-Mayo de 1988 se basaba en el tipo histológico (astrocitoma y oligodendroglioma) y basaba los grados histológicos según: atipia, mitosis, necrosis y neovascularización ^[23].

Con estas bases, en 1979 la OMS creó su clasificación y se han ido creando nuevas ediciones en 1993, 2000 y 2007 (previo a la actual de 2016) [5].

La clasificación de 2016, como ya se ha revisado, presenta cambios importantes, basados sobre todo en la utilización de los datos moleculares para clasificar a los tumores.

En 2014 se reunieron en Harlem un grupo de 28 neuropatólogos expertos para debatir estos aspectos, de cómo los nuevos conocimientos moleculares podrían mejorar la clasificación de los tumores del SNC, y amparados por la OMS elaborar una nueva clasificación.

Se avanzó hacia una clasificación en base al aspecto histológico, pero se requería también un estudio molecular para alcanzar lo que se denominaría un “diagnóstico integrado”, y, en resumen, habría que decir que el conocimiento de las bases biológicas de los gliomas infiltrantes ha conducido a la utilización de nuevos marcadores moleculares tanto con una finalidad diagnóstica, pronóstica como predictiva.

Esta nueva clasificación ha supuesto multitud de cambios en las diferentes categorías. Este es un esquema de los cambios que se han producido entre la clasificación de la OMS del 2007 y 2016.

Clasificación WHO 2007

Clasificación WHO 2016

TUMOURS OF NEUROEPITHELIAL TISSUE

Astrocytic tumours

Pilocytic astrocytoma	9421/1 ¹
Pilomyxoid astrocytoma	9425/3*
Subependymal giant cell astrocytoma	9384/1
Pleomorphic xanthoastrocytoma	9424/3
Diffuse astrocytoma	9400/3
Fibrillary astrocytoma	9420/3
Gemistocytic astrocytoma	9411/3
Protoplasmic astrocytoma	9410/3
Anaplastic astrocytoma	9401/3
Glioblastoma	9440/3
Giant cell glioblastoma	9441/3
Gliosarcoma	9442/3
Gliomatosis cerebri	9381/3

Oligodendroglial tumours

Oligodendroglioma	9450/3
Anaplastic oligodendroglioma	9451/3

Oligoastrocytic tumours

Oligoastrocytoma	9382/3
Anaplastic oligoastrocytoma	9382/3

Ependymal tumours

Subependymoma	9383/1
Myxopapillary ependymoma	9394/1
Ependymoma	9391/3
Cellular	9391/3
Papillary	9393/3
Clear cell	9391/3
Tanycytic	9391/3
Anaplastic ependymoma	9392/3

Choroid plexus tumours

Choroid plexus papilloma	9390/0
Atypical choroid plexus papilloma	9390/1*
Choroid plexus carcinoma	9390/3

Other neuroepithelial tumours

Astroblastoma	9430/3
Choroid glioma of the third ventricle	9444/1
Angiocentric glioma	9431/1*

Diffuse astrocytic and oligodendroglial tumours	
Diffuse astrocytoma, IDH-mutant	9400/3
Gemistocytic astrocytoma, IDH-mutant	9411/3
Diffuse astrocytoma, IDH-wildtype	9400/3
Diffuse astrocytoma, NOS	9400/3
Anaplastic astrocytoma, IDH-mutant	9401/3
Anaplastic astrocytoma, IDH-wildtype	9401/3
Anaplastic astrocytoma, NOS	9401/3
Glioblastoma, IDH-wildtype	9440/3
Giant cell glioblastoma	9441/3
Gliosarcoma	9442/3
Epithelioid glioblastoma	9440/3
Glioblastoma, IDH-mutant	9445/3*
Glioblastoma, NOS	9440/3
Diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant	9385/3*
Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9450/3
Oligodendroglioma, NOS	9450/3
Anaplastic oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9451/3
Anaplastic oligodendroglioma, NOS	9451/3
Oligoastrocytoma, NOS	9382/3
Anaplastic oligoastrocytoma, NOS	9382/3
Other astrocytic tumours	
Pilocytic astrocytoma	9421/1
Pilomyxoid astrocytoma	9425/3
Subependymal giant cell astrocytoma	9384/1
Pleomorphic xanthoastrocytoma	9424/3
Anaplastic pleomorphic xanthoastrocytoma	9424/3
Ependymal tumours	
Subependymoma	9383/1
Myxopapillary ependymoma	9394/1
Ependymoma	9391/3
Papillary ependymoma	9393/3
Clear cell ependymoma	9391/3
Tanycytic ependymoma	9391/3
Ependymoma, <i>RELA</i> fusion-positive	9396/3*
Anaplastic ependymoma	9392/3
Other gliomas	
Choroid glioma of the third ventricle	9444/1
Angiocentric glioma	9431/1
Astroblastoma	9430/3
Choroid plexus tumours	
Choroid plexus papilloma	9390/0
Atypical choroid plexus papilloma	9390/1
Choroid plexus carcinoma	9390/3

Vamos a verlo más detallado y sobre todo en relación con los gliomas infiltrantes.

Como primer punto, se agrupan los astrocitomas difusos y los circunscritos. Los gliomas difusos se agrupan en gliomas difusos astrocitarios y oligodendrogliales y se separan el grupo de gliomas bien circunscritos. Con anterioridad, como se clasificaba según el tipo histológico, estos gliomas de tipo circunscrito, que la gran mayoría son astrocitarios, se agrupaban con los astrocitomas. Ahora esto ha cambiado, la OMS agrupa astrocitomas difusos y oligodendroglomas difusos porque ambos son difusos y comparten algunas características moleculares, y lo diferencia de los gliomas bien circunscritos como el pilocítico o el xantocitoma pleomórfico.

En segundo lugar, desaparecen algunas entidades como el oligoastrocitoma.

El astrocitoma protoplasmático es una entidad que desaparece porque no hay un acuerdo morfológicamente, no se diagnostica prácticamente nunca y puede corresponder a otro tipo de entidades.

¿Como han quedado los astrocitomas difusos en la clasificación de la OMS del año 2016?

- El paradigma de astrocitoma difuso que conocíamos hasta ahora, sería el astrocitoma difuso IDH mutado y en el caso del anaplásico estaría el astrocitoma anaplásico IDH1 mutado.

- El glioblastoma se segrega en dos tipos: IDH 1 mutado y no mutado y aparece una entidad denominada glioblastoma epitelioides.

- Hay otras entidades englobadas en los astrocitomas difusos:
 - Astrocitoma difuso NOS. La OMS reserva este término NOS (Not Otherwise Specified), para aquellos casos en los que no podemos obtener datos moleculares. Son situaciones en las que los test diagnósticos para la clasificación de la OMS no se pueden realizar o el test necesario ha fallado.
 - El término NOS ha sido recientemente matizado y se ha introducido el término NEC: Not Elsewhere Classified. Los casos clasificados como NEC, se han realizado los test necesarios para el diagnóstico y están disponibles los resultados pero los datos no encajan con un diagnóstico específico de la OMS. Sobre todo, suele darse cuando hay una discordancia entre los datos histológicos, moleculares e inmunohistoquímicos (IHQ).
 - La OMS reconoce además que existen algunas entidades provisionales, que son las que están en cursiva y con un asterisco delante como sería el astrocitoma difuso IDH wild type (WT) por ejemplo, o el astrocitoma anaplásico IDH WT y creen que son provisionales porque son entidades que probablemente no estén bien definidas o en tipo histológico o en grado de malignidad, por ejemplo, un astrocitoma difuso IDH WT no tenemos claro si realmente tendría un grado II de malignidad o podría ser un GB mal biopsiado, entonces, la OMS reserva este término como un término provisional con el que no está muy de acuerdo pero de momento se reserva.

Una aclaración, cuando hablamos de tumores IDH mutado o WT tenemos que tener en cuenta algunos puntos:

Existen dos genes de *IDH*: *IDH1* e *IDH2* (de hecho, existen más, pero desde un punto de vista práctico vamos a asumir estos dos). Existe un test IHQ que detecta la forma mutada de *IDH1* R132H que es la más prevalente pero no es la única. Por lo tanto, si se obtiene una IHQ positiva para la forma R132H puede afirmarse que existe mutación *IDH1* R132H pero una IHQ negativa para *IDH1* R132H no es igual a un *IDH* WT.

¿qué habría que hacer para asegurar que se está ante un caso *IDH* WT?

Se debería secuenciar *IDH1* e *IDH2*. El problema es que esta secuenciación, debido que la mayoría de los casos corresponden a glioblastomas, puede ser muy laboriosa y la OMS recomienda que se puede hacer un diagnóstico de casos *IDH1* WT en algunas situaciones, solo con un IHQ negativa.

Las situaciones en las que se acepta *IDH* WT sin necesidad de completar el estudio con una secuenciación son:

- Glioblastoma (GB), la gran mayoría son primarios y WT,
- En pacientes mayores de 55 años porque en estos casos la probabilidad de encontrar un caso mutado es muy baja siempre y cuando no existe una lesión previa de menor grado, es decir, cuando no tengamos la sospecha que en realidad estamos ante un glioblastoma secundario.
- También debe cumplir el criterio de que no ocupe la línea media o cuando esté descartada la entidad nueva de astrocitomas difusos de la línea media que tienen mutación en genes de la histona 3.

No podemos hacer el dx de un tumor *IDH* WT si no hacemos la secuenciación a pesar que la IHQ salga negativa si estamos ante tumores de bajo grado, astrocitomas o oligodendrogliomas II o III.

¿Cómo se han quedado los tumores oligodendrogliales en la clasificación año 2016?

El término oligodendroglioma se reserva para un tumor que tenga *IDH* mutado y 1p/19q codeleciónado. Es un criterio molecular prácticamente y asimismo en el caso de oligodendroglioma anaplásico: *IDH1* mutado y 1p/19q codeleciónado.

Como en el caso del astrocitoma, como hemos visto, la OMS reserva el término NOS en los casos en los que no se conocen los datos moleculares, aunque se insiste en que

en un oligodendroglioma no se debería permitir no conocer los datos moleculares. Y de nuevo se pone asteriscos en las entidades que se entienden como provisionales.

Por otra parte, OMS desaconseja completamente el diagnóstico de oligoastrocitoma porque la mayoría de los oligoastrocitomas, cuando se hacen los estudios moleculares, o bien caen en el grupo de los oligodendrogliomas o de los astrocitomas. Únicamente deja un oligoastrocitoma NOS grado 3 o grado 4 para aquellos casos en los que los estudios no son concluyentes porque puede tener alteraciones de los dos tipos (muy raro) o porque no se han podido realizar los estudios por escaso material. Por lo tanto, la histología clásica de los oligodendrogliomas no es ya ni necesaria ni criterio suficiente para el diagnóstico de oligodendroglioma.

¿Y cuáles serían las implicaciones clínicas de la nueva clasificación?

Está claro que la nueva clasificación permite diagnósticos más objetivos y mejor estratificación de los pacientes en grupos con relevancia clínica.

Los problemas con que nos encontramos actualmente son por un lado que nos obliga a personalizar los tratamientos teniendo en cuenta todos estos nuevos grupos que se han creado con la estratificación y para muchos de estos grupos no hay estudios prospectivos validados de supervivencia.

Por otra parte, aunque la mayoría de estas entidades quedan definidas molecularmente, nos sigue quedando un grupo de tumores, que probablemente son muy heterogéneos, y no quedan definidos y que muchas veces están definidos por ausencia de marcadores.

La integración del diagnóstico molecular al diagnóstico retrasa el diagnóstico porque las biopsias de cerebro son a veces muy pequeñas y el acercamiento tiene que ser paulatino y supone la implementación de todas estas técnicas en todos los centros donde se diagnostiquen y traten tumores gliales.

¿qué marcadores y que técnicas deberían implantarse?

La OMS propone estas 3 alteraciones moleculares como diagnósticas:

- Las mutaciones de IDH
- La codeleción de 1p/19q

-La mutación de K27 de histona 3

Para IDH necesitamos IHQ, y la secuenciación.

Hay biomarcadores que pueden ser de ayuda, las mutaciones de ATRX, las mutaciones del promotor del TERT o la amplificación de EGFR.

Nuevas aportaciones a la actual clasificación de la OMS:

En el mismo año 2016 un grupo de expertos pusieron en marcha una iniciativa que se denominó c-IMPACT-NOW (the Consortium to inform Molecular and Practical Approaches to CNS Tumor Taxonomy- Not Official WHO). Se planteaba con ello crear un foro para resolver problemas planteados por la reciente clasificación de la OMS y proponer aclaraciones y recomendaciones para resolver aspectos asistenciales y para incorporar a futuras ediciones de la clasificación de la OMS.

De los trabajos publicados, el primero aborda los términos NOS (not Otherwise Specified) y NEC (Not Elsewhere Classified) ^[24].

El segundo clarifica la definición de glioma de la línea media y astrocitoma grado II y grado III mutado ^[25].

En el tercer trabajo publicado se profundiza en los casos con diagnóstico de astrocitoma grado II y grado II IDH-WT ^[26].

La cuarta publicación aclara la situación de los gliomas difusos caracterizados por alteraciones en MYB, FGF o BRAF ^[27]

El quinto trabajo actualiza los criterios de gradación y aspectos terminológicos para los astrocitomas con mutación en IDH ^[28].

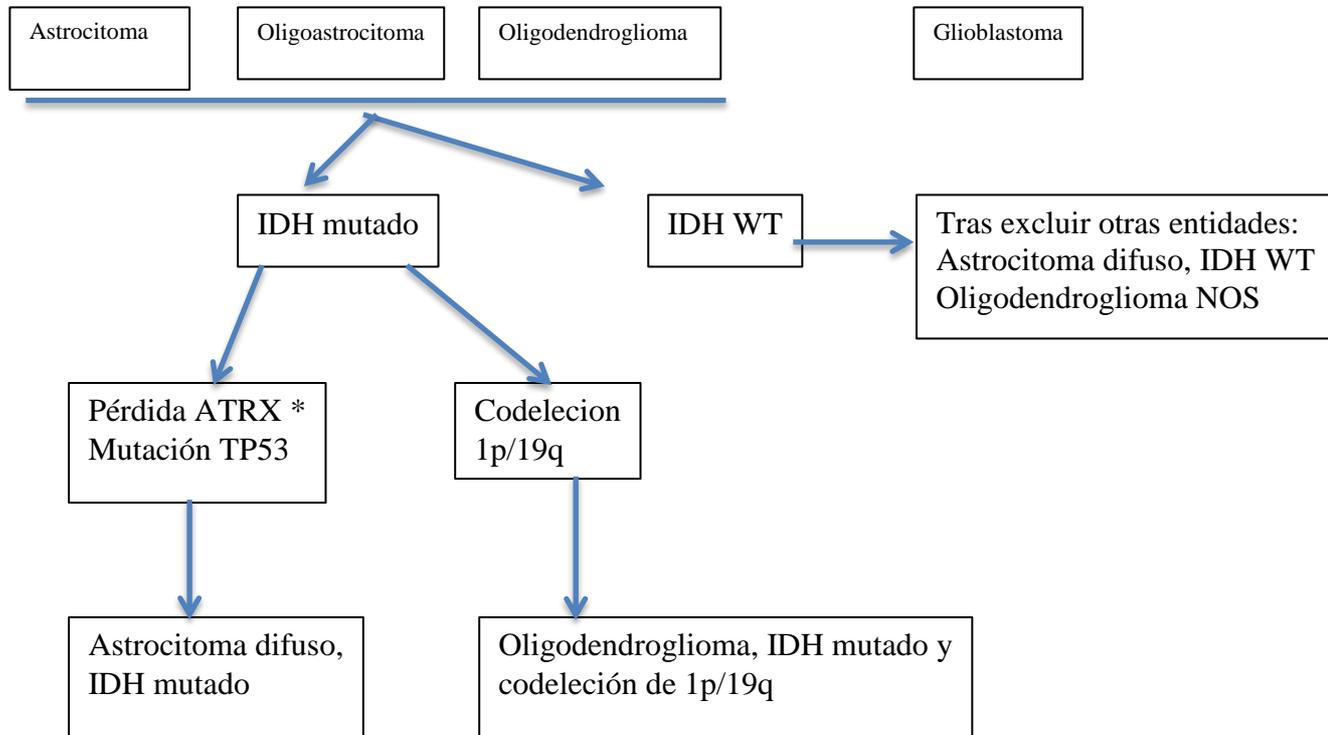
En la sexta actualización, se establecen recomendaciones para futuras clasificaciones y gradación de los tumores ^[29]

Y la séptima publicación trata sobre la clasificación molecular de los tumores ependimarios. ^[30]

Por último, están los algoritmos diagnósticos propuestos en base a estos datos moleculares:

1.5 Algoritmos diagnósticos para la clasificación de la OMS 2016

Se han publicado algunos algoritmos para llegar a este diagnóstico integrado.
 Por una parte, tenemos el siguiente algoritmo diagnóstico propuesto en la clasificación de la WHO 2016:



*Característico, pero no requerido para diagnóstico

Test no realizado o no concluyente:
 Astrocitoma difuso, NOS
 Oligodendrogloma, NOS
 Oligoastrocitoma, NOS

Algoritmo diagnóstico de la clasificación de la OMS 2016:
 Fuente: Louis et al

Este sería un esquema que sirve como algoritmo diagnóstico de los tumores.
 Primero se haría un estudio de las mutaciones IHQ de IDH y si hiciera falta se procedería con la secuenciación, entonces, si el tumor tiene una codeleción de 1p19q, se diagnosticaría de un oligodendrogloma. Si está mutado y lo que tiene es pérdida de ATRX y p53 sería un astrocitoma. En este caso ATRX y p53 son característicos, pero

no son necesarias para el diagnóstico de astrocitoma, sin embargo, 1p/19q es necesario para el diagnóstico de oligodendroglioma.

En el caso de los glioblastomas puede ser IDH mutado o WT. El WT, como hemos visto, podemos definirlo con IHQ si el paciente tiene más de 55 años, no hay lesión previa y no está en línea media. En caso que no podamos hacer los test o sean no concluyentes, lo dejaríamos como estas variantes NOS.

Este es de hecho el esquema que hemos seguido para reclasificar a los casos de nuestra muestra.

Por otra parte, la EANO (European Association of Neuro-Oncology) ha publicado unas guías de diagnóstico y tratamiento de los gliomas infiltrantes.

De esta publicación se puede extraer el siguiente algoritmo diagnóstico:

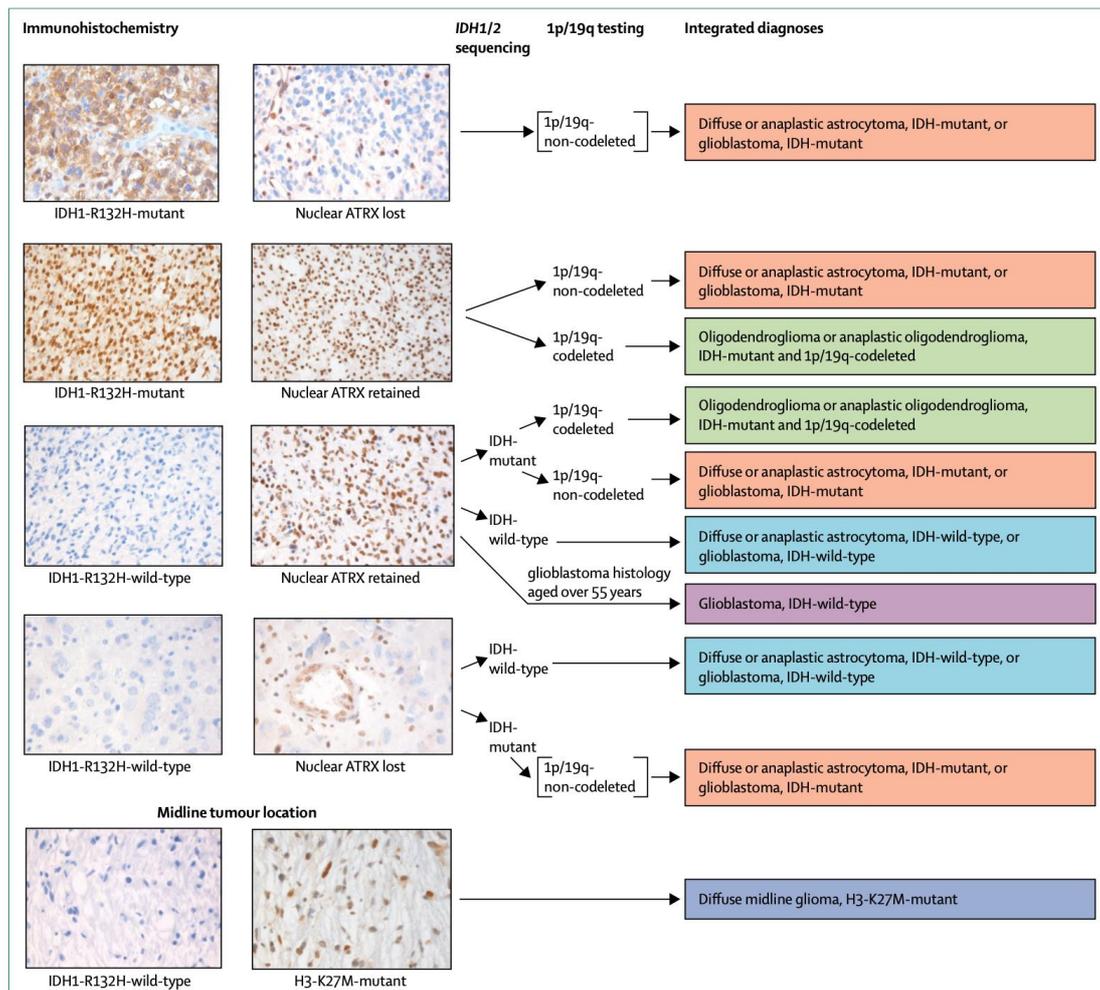


Figure 1: Diagnostic algorithm for integrated classification of diffuse astrocytic and oligodendroglial gliomas, including glioblastoma

En este caso, podemos resumir que el primer paso sería un estudio histológico y poder, en este caso, definir si el diagnóstico es de glioma infiltrante.

Si estamos ante un glioma infiltrante, el primer análisis recomendado es el de realizar el estudio de IDH por IHQ (IDH1-R132H) y de ATRX.

La presencia de mutación en ATRX marca una línea astrocitaria y sabemos que está ligada además a mutaciones en IDH porque básicamente no está presente en casos de IDH WT.

En la primera situación presentada en la figura, un glioma infiltrante con positividad para IDH1 (mutado) y ATRX mutado, es diagnóstico de astrocitoma infiltrante. Para el grado, se utilizarían las características histológicas previamente descrita.

La siguiente situación sería la posibilidad de encontrarnos con IDH mutado, pero sin mutación en ATRX. Aquí podemos estar ante un oligodendroglioma o un astrocitoma sin mutación de ATRX. En esta situación, tal como podemos ver en la figura, habría que realizar la codeleción de 1p/19q para definir una u otra entidad. Después correspondería aplicar los criterios histológicos para dar el grado de malignidad. Aquí hay que señalar que todos los casos diagnosticados de oligodendrogliomas deben cumplir el criterio de mutación de IDH y codeleción de 1p/19q.

El resto de la figura nos presenta el algoritmo en caso de IDH-R132H sea negativo: En este caso, en primer lugar, hay que asegurar que realmente sea IDH WT, mediante el estudio de otras mutaciones diferentes a R132H o IDH2. Para ello se puede estudiar mediante secuenciación de IDH1 e IDH2.

- Tras la secuenciación podemos encontrarnos IDH mutado y entonces hay que volver a ver el resultado de ATRX por IHQ. Si ATRX estuviera mutado estaríamos ante un astrocitoma y si ATRX no está mutado, habría que hacer la determinación de 1p/19q y determinar si podría tratarse de un oligodendroglioma o, en caso negativo, astrocitoma con ATRX no mutado.

- La otra posibilidad es que por secuenciación IDH resultara WT. En este caso el diagnóstico sería astrocitoma WT, ya que los oligodendrogliomas por definición tienen mutación de IDH ^[31].

1.6.Vía de las ciclinas. Vía de las ciclinas en oligodendrogliomas

1.6.1. Descripción del ciclo celular

A. Fases del ciclo celular

B. Regulación del ciclo celular y elementos de ciclo celular

C. Puntos de control del ciclo celular (checkpoints)

D.Integración de los procesos celulares con las CDKs

El ciclo celular es un concepto muy importante para la célula en situación de normalidad y también en situaciones oncológicas. Es un proceso básico en biología que tiene como fin la formación de una nueva célula.

Es por otra parte, un proceso complejo donde participan prácticamente todos los orgánulos de la célula.

Para describir este proceso vamos a revisar lo que son las fases del ciclo celular y así como los mecanismos de control.

A. Fases del ciclo celular:

El ciclo celular se puede dividir, de manera esquemática en dos fases, la de mitosis y la interfase.

En la fase de mitosis la célula va a producir la división celular y en la interfase se dan unos procesos preparatorios para esta división.

Etapas de la interfase

Fase G1: En esta fase G1 se sintetizan el ARN y las proteínas, lo que dará lugar a un cambio en la apariencia de la célula debido al incremento de tamaño. La célula

incrementa además el número de estructuras citoplasmáticas y también sus organelas y el material enzimático. Se verifica si se dan las condiciones necesarias para que la célula llegue a dividirse y si esta fase se concluye de manera adecuada la célula pasará a la fase S.

Fase G0: La fase G0 es un estado de reposo. La célula se encuentra fuera del ciclo celular. La célula, en ausencia de estímulos de factores de crecimiento, o si se suprimen los nutrientes, entra en una fase de latencia.

Fase S: síntesis En esta fase se produce la replicación del ADN. En este punto el núcleo aumenta su tamaño ya que las proteínas se acumulan para la síntesis de ADN. El contenido en ADN pasa de estado diploide $2n$ hasta $4n$.

Fase G2: Es el periodo desde el final de la fase S hasta la mitosis. La célula tiene aquí dos juegos diploides completos de cromosomas.

En esta fase, se completa la duplicación del ADN y se ponen en funcionamiento los procedimientos para ensamblar las estructuras necesarias para una división igual entre las dos células hijas, tanto de material genético como el resto de organelas. La cromatina se condensa.

División

Fase M: Se produce segregación de las dos células hijas.

B. Regulación del ciclo celular

La regulación del ciclo celular descrito previamente ha de ser muy exacto. De hecho, su desregulación está asociado a procesos como el cáncer.

El ciclo celular se activa por la expresión de ciclinas que se unen a CDKs, que tienen actividad kinasa y hacen que el ciclo progrese a otra fase.

El ciclo celular, además, está regulado por unos factores que pueden parar el ciclo en puntos determinados. Son unos puntos de chequeo. De esta manera se vigila si la fase anterior se ha cumplido bien y se decide si da lugar a la siguiente y así se impide que

se entre en una fase concreta sin que la fase anterior se haya llevado a cabo de forma adecuada.

Estos puntos de chequeo están en momentos esenciales del ciclo celular. Si un checkpoint decide que ha habido problemas en un momento, se para el ciclo celular y da tiempo a reparar el problema.

Hay dos puntos en los que se debe tomar la decisión de si se debe seguir el ciclo celular:

- El punto de decisión para la replicación de los cromosomas, que se toma en fase G1: si las condiciones son adecuadas se pasa a la fase S. En levaduras se ha denominado START y en células animales se llama punto de restricción.
- El punto de decisión para la decisión de división celular, que se toma al final de G2.

Puede decirse que el control en G1 es el más importante. Pasado este punto, lo más habitual es que la célula llegue a dividirse. Es el punto donde se considera que la célula toma la decisión de dividirse. Esta decisión se va a tomar en función de si la masa celular es la adecuada para que se siga el ciclo celular y también como respuesta a estímulos externos (por ejemplo, en base a los nutrientes que pueda tener la célula, si una célula está en un medio de cultivo, sin nutrientes, no va a entrar en ciclo celular).

Elementos de control del ciclo celular

B.1 Elementos de control del ciclo celular:

Este control del ciclo celular está compuesto por varias proteínas:

- las ciclinas (cdc), que se llaman así porque aparecen y desaparecen a lo largo del ciclo celular, y
- las cinasas dependientes de ciclinas (CDK), que en situación monomérica no tienen prácticamente actividad, pero se activan por acción de las ciclinas al ser fosforiladas en determinados aminoácidos (serinas y treoninas).
- Retinoblastoma (Rb)
- Inhibidores de CDKs como p16 y su familia INK4 y la familia CIP/KIP p21,27 y p57.

1. CDK (quinasas dependientes de ciclinas)

Como hemos revisado previamente, estas quinasas forman parte de los mecanismos de control de la división celular.

Partiendo de los conocimientos iniciales en levaduras se ha podido ver que en mamíferos es bastante más complejo. En levaduras solo hay una de ellas, CDC2, en mamíferos hay hasta 20 CKs, que van desde CDK1 (que equivale a CDC2), hasta CDk20 y hay distintas subfamilias.

Las CDKs son, por tanto, una familia de quinasas dependientes de las ciclinas. Como su nombre indica, tienen una actividad kinasa aunque en su forma monomérica no tienen prácticamente actividad y se activa por acción de unas proteínas denominadas ciclinas, por ello reciben el nombre de quinasas dependientes de ciclinas.

En cuanto a su estructura, es bilobulada, y el sitio activo está entre ambos lóbulos.

Por otra parte, hay que tener en cuenta que sabemos que hay muchas ciclinas (hay en el genoma humano unas 30 ciclinas).

La complejidad deriva de que la interacción entre las ciclinas y las CDKs es diversa y una ciclina puede interaccionar con distintas CDKs y a la inversa. Hay por tanto una gran complejidad entre las ciclinas y CDKS.

La unión de las ciclinas produce un cambio que genera una rotación en la estructura de la CDKs, que afectan al sitio de unión al ATP.

Estas CDKs tienen distintas funciones en la célula, están las implicadas en el ciclo celular, implicadas en activar otras quinasas, y en la transcripción. El objeto de este trabajo es revisar aquellas implicadas en el ciclo celular, que vamos a detallar a continuación:

CDKs implicadas en el ciclo celular.

A.1 CDK4/CDK6

Una de las fases más importantes del ciclo celular es cuándo la célula decide entrar en el ciclo celular y esto es importante porque la mayor parte de las células del adulto (95-98%), están en quiescencia, la mayor parte de nuestras células no se está dividiendo.

¿y que tiene que hacer una célula para entrar en ciclo celular? Expresar la maquinaria necesaria para fase S y para mitosis. Por eso el evento número uno en ciclo celular es transcripción, normalmente una célula quiescente no expresa los genes necesarios para fase S, y cuando quiere entrar en ciclo celular tiene que expresar estos genes. Así que el evento número uno es inducir transcripción de los genes necesarios para dividirse. Y aquí entran una serie de CDKS, entre ellas **CDK4/CDK6** que son kinasas que junto con ciclina D fosforilan retinoblastoma y también otros factores de transcripción, y esto hace que comiencen las oleadas de transcripción necesarias para el ciclo celular. Rb está implicado en la represión de la transcripción. Al fosforilar Rb (o sus proteínas relacionadas p107 o p130), se produce una inhibición de la represión de múltiples genes que sintetizan proteínas para la síntesis de DNA (fase S), o mitosis.

A.2. CDK1 y CDK2

Una vez que la célula ha duplicado el DNA, CDK1 se activa por ciclina A o ciclina B promoviendo procesos celulares como la maduración del centrosoma, condensación de cromosomas y entrada en mitosis tras la rotura de la membrana nuclear.

CDK2 también puede contribuir a este proceso, aunque puede tener funciones adicionales en la replicación y reparación del DNA.

Por lo tanto, tenemos CDK2 está más involucrada en las fases posteriores del ciclo celular y CDK1 que sobre todo participa en mitosis.

Pero esta es una visión simplificada porque puede haber, en un determinado momento, otras interacciones, por ejemplo, en ausencia de CDK4/6, CDK2 puede interactuar con la ciclina D y CDK1 puede interactuar con ciclina A o E en ausencia de CDK2 o CDK4 [32] [33].

2. Las ciclinas

Las ciclinas se unen a las CDKs y controlan sus funciones, que consisten en la fosforilación de otras proteínas. El ciclo celular se ve dirigido por este ensamblaje cíclico entre estos dos compuestos, ciclinas y kinasas dependientes de ciclinas.

Como se ha expuesto previamente, las ciclinas reciben este nombre ya que aparecen y desaparecen a lo largo del ciclo celular. Por lo tanto, el proceso de degradación de estas proteínas resulta clave para control del ciclo celular.

Las ciclinas son el paradigma de moléculas reguladas por ubiquitina ya que requieren una importante regulación. La degradación por ubiquitinas es una degradación controlada regulatoria. Las proteínas identificadas por ubiquitina (que es un pequeño péptido), pueden ser reconocidas por el proteasoma, que es básicamente es una máquina de degradación de proteínas.

3. Retinoblastoma (Rb)

Rb es un represor de la transcripción. Las células son quiescentes porque proteínas represoras como Rb y otras proteínas que están sentadas sobre el ADN impiden su transcripción. Se relaciona con la represión de cientos de genes.

El retinoblastoma es sustrato de los complejos cdk-ciclina D y kdc2-ciclina E. En estado de reposo o al principio de G1, el Rb se encuentra unido al factor de transcripción E2F. El complejo Rb-E2F asegura por un lado que no se sinteticen genes esenciales para que la fase S no se inicie (la actividad de E2F es esencial para la actividad de estos genes) y además, también está implicado en la transcripción de otros genes que permiten retener a la célula en G1.

La fosforilación de Rb causa la liberación de E2F y se pone en marcha la transcripción de genes.

En G1 o G0, la Rb es fosforilada por las kinasas cdk4, 6-ciclina y permite la liberación de E2F.

Ciclina D1 tiene una especial relación con Rb. La sobreexpresión de D1 promueve la entrada en la fase S y la inhibición de D1 retiene la célula a no entrar en fase S.

Por lo tanto, Rb es un represor de la transcripción.

4. Inhibidores de CDKs (CKis)

Estos inhibidores mantienen los complejos cdk-ciclina en su forma inactiva, evitando la fosforilación de Rb por lo que impiden la entrada en el ciclo celular.

Estas proteínas CKis se clasifican en dos clases: La familia INK y la familia KIP.

La familia INK se compone de cuatro miembros: p16, p15, p18 y p19.

La familia KIP se compone de tres miembros: p21, p27 y p57.

C. Puntos de control del ciclo celular (checkpoints)

Punto de control en G1.

Este es el principal punto de control y se encuentra al principio del ciclo celular, antes de entrar a la fase S. Este punto lleva a decidir a la célula si entra en fase S para duplicar el genoma. Es un punto de no retorno ya que si la célula duplica el genoma ha de dividirse necesariamente.

En este punto actúan varias ciclinas, las más importantes son CDK4 y CDK6, que junto con ciclina D fosforilan retinoblastoma y esto hace que comiencen las oleadas de transcripción necesarias para el ciclo celular.

Cuando empieza el ciclo celular la ciclina D1 se une a CDK4/CDK6 y esto hace que se desarrolle el proceso de G1. Este punto resulta muy importante ya que es el punto en el que coinciden las distintas rutas mitogénicas. De esta manera la Ciclina D1 y en cierta medida CDK4/CDK6 son responsables del inicio del ciclo celular.

Para entrar en ciclo celular necesitamos proteínas que inactiven retinoblastoma, aquí entran las CDK y las ciclinas, porque la ciclina D se induce bajo mecanismos mitogénicos (esta Ras, PI3K etc). Esto hace que se induzca ciclina D, que se active CDK4/CDK6, fosforile retinoblastoma y se inactive. Al ser retinoblastoma un represor, cuando lo activamos permitimos que se activen algunos genes.

Por ejemplo, algunos de los genes que se activan son ciclina E, que, a su vez va a unirse a CDK2 y seguir el proceso del ciclo celular.

Control del ciclo en fase G2/M

Las ciclinas mitóticas se unen a las CDKs durante la fase G2 y forman el factor promotor de la fase M (FPM), el cual induce a la célula a entrar en mitosis.

1.6.2 Vía de las ciclinas en oligodendrogliomas

1. Vía de las ciclinas y alteraciones cromosómicas en oligodendrogliomas.

Cromosoma 9q y CDKN

En los oligodendrogliomas, desde el punto de vista molecular, la alteración más frecuente afecta al cromosoma 19 y al cromosoma 1.

La alteración más frecuente consiste en la pérdida de heterocigosidad (LOH) del brazo largo del cromosoma 19.

En la mayoría de los oligodendrogliomas, la pérdida afecta a todo el loci informativo de 19q, indicando que todo el cromosoma ha sido delecionado. Pero en algunos casos se ha observado una pérdida parcial. Por tanto, se ha tratado de buscar el gen supresor de tumores en esta localización, que tras la deleción se haya perdido. Una de las regiones que se han apuntado es la 19q13.3 ^[34].

La segunda alteración más frecuente es la LOH del brazo corto del cromosoma 1.

La asociación de la pérdida de 1p y 19q sugiere un efecto sinérgico de ambas alteraciones llevando a una ventaja selectiva para el crecimiento tumoral.

Algunos estudios indican la presencia de más de un gen supresor de tumores en relación con 1p. Se han identificado al menos dos regiones potenciales para genes supresores de tumores: 1p36.3 y 1p34-35 ^[35].

Estos datos permitieron avanzar en mejorar los criterios para el diagnóstico ya que se determinó que la deleción de 1p/19q se asociaba más frecuentemente a tumores oligodendrogliales y las mutaciones en TP53 a los tumores astrocitaros.

Por otra parte, los oligodendrogliomas anaplásicos presentan un número más elevado de alteraciones cromosómicas que los oligodendrogliomas de grado II, indicando que la progresión hacia malignidad se asocia a la adquisición de múltiples anomalías genéticas. A parte de la deleción de 1p/19q, que comparten con los gliomas de bajo

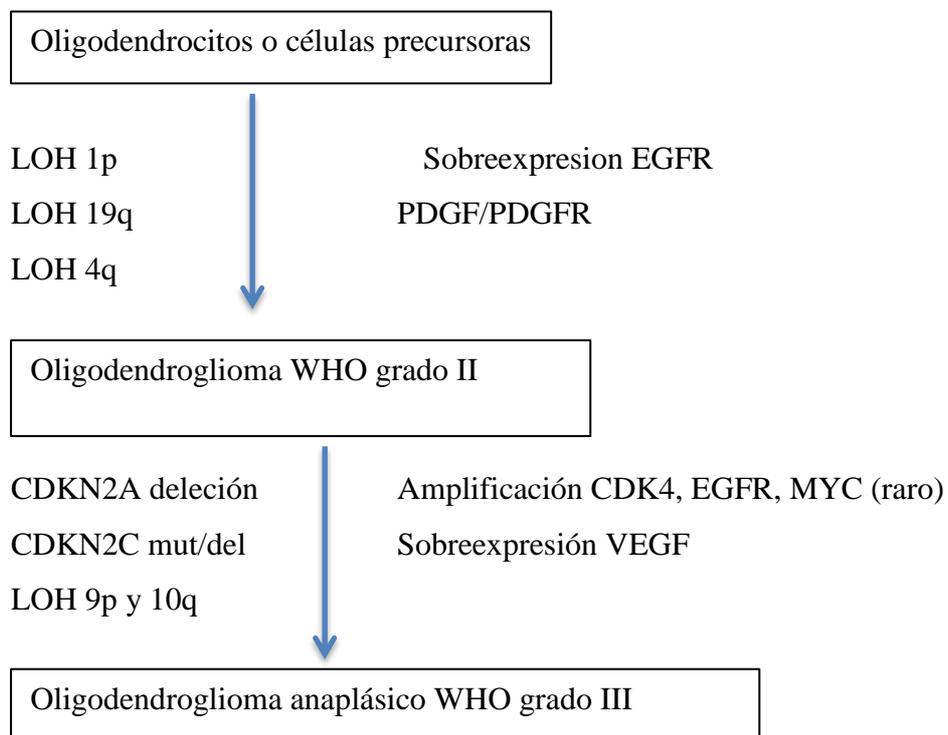
grado, se ha podido encontrar un aumento de la incidencia de deleciones en el brazo corto del cromosoma 9 (también presente en los tumores de tipo astrocitario).

El cromosoma 9 se relaciona con la vía de las ciclinas: CDKN2A (conocido como cyclin-dependent kinase inhibitor 2A) es un gen que se localiza en el cromosoma 9, banda p21.3. El gen codifica para 2 proteínas que incluyen p16 (o p16INK4a) y p14arf. Ambos actúan como genes supresores de tumores.

Trabajos previos han encontrado una afectación del gen supresor de tumores CDKN2A en 9p21 con deleción homocigota en un 25% de los oligodendrogliomas anaplásicos.

Reifenberger et al, hicieron un estudio cromosómico de 37 oligodendrogliomas y encontraron que más de la mitad de los casos con pérdidas de 1p/19q tenían además pérdidas en otros cromosomas. Los más frecuentemente afectados fueron 9p y 14q, pero la LOH de 9p solo se observó en oligodendrogliomas anaplásicos ^[36].

De hecho, el diagrama propuesto por la WHO previo a la clasificación de 2016 para estos tumores era el siguiente ^[37]:



Varios trabajos se han llevado a cabo profundizando en estos datos.

En los años 90 y principios de 2000 los trabajos incidieron en los hallazgos de las pérdidas cromosómicas en 1p/19q en estos tumores y la pérdida en el cromosoma 9 (con deleción de CDKN2A) en la transición hacia tumores de grado III.

Estos estudios se caracterizaron por la inclusión de pacientes con tumores oligodendrogiales seleccionados por criterios morfológicos. En este sentido, un número importante de los pacientes que se incluían en el análisis, no tenían codelección de 1p/19q, además se incluían oligoastrocitomas e incluso también glioblastomas. Con los criterios actuales de definición molecular, muchos de estos casos serían clasificados como astrocitomas o glioblastomas. Esto ha de ser tenido muy en cuenta cuando analizamos los resultados, ya que los resultados encontrados podrían deberse a lo que hoy entenderíamos como otros tipos histológicos no oligodendrogliomas.

Bigner et al han profundizado en los aspectos moleculares de los oligodendrogliomas y revisaron 55 casos, encontrando que además de la pérdida de 1p/19q, había otras alteraciones moleculares en los oligodendrogliomas, entre las que estaba la delección de 9p /CDKN2A presente en 42% de los casos de grado III frente a 14% en grado II. Estas pérdidas de 9p se dieron en un 70% de los casos, en pacientes que tenían, además, pérdida de 1p/19q.

Concluyeron que la pérdida de 9p/delección de CDKN2A se asociaba a progresión de grado II a grado III^[38].

En ese mismo periodo, Cairncross et al buscaban marcadores moleculares predictivos de respuesta a quimioterapia en estos tumores, y publicaron datos en los que se podía observar una respuesta a la quimioterapia asociado a la pérdida de 1p/19q. También analizaron la pérdida de CDKN2A (ocurría en un 21% de los casos) y encontraron que era un factor de mal pronóstico.

Además, también describieron que esta pérdida de CDKN2A se daba sobre todo en los tumores con 1p/19q intacto.

Estos datos dan lugar a la controversia sobre si realmente la pérdida de CDKN2A puede estar relacionado con los oligodendrogliomas definidos por criterios de la OMS 2016^[39] ^[40].

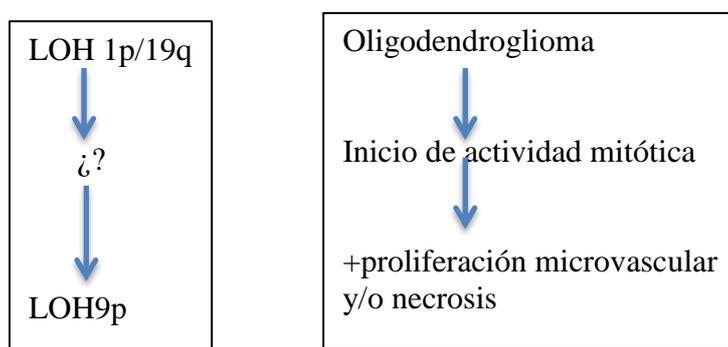
Otro estudio publicado por Miettinen et al incidían en la importancia de la expresión de CDKN2/p16 como paso para la progresión tumoral. Demostraron esa importancia en tumores astrocitarios y en oligodendrogliomas, la falta de expresión de la proteína predecía pobre supervivencia. Sugerían que la falta de expresión de CDKN2/p16

pueda utilizarse para identificar aquellos tumores astrocitarios y oligodendrogiales que pueden evolucionar peor^[41].

Por otra parte, otros estudios que han incidido en la relación entre la pérdida de 9p/CDKN2A/p16 y los hallazgos histológicos.

Godfraind et al encontraron en los oligodendrogliomas anaplásicos asociación entre la pérdida del cromosoma 9 y la presencia de proliferación microvascular y la necrosis.

Los autores establecían la hipótesis de la relación entre CDKN2A y su actividad sobre la expresión de VEGF. Propusieron la siguiente evolución genética e histológica^[42].



Figarella-Branger et al revisaron 203 casos de oligodendrogliomas anaplásicos y encontraron que, por criterios histológicos y moleculares, podrían dividirse en 3 grupos: el grupo 1, con >5 mitosis/10 CGA (campo de gran aumento), pero sin necrosis ni proliferación microvascular; el grupo 2, con proliferación microvascular pero sin necrosis; y el grupo 3, con proliferación microvascular y necrosis.

La proliferación microvascular estaba asociada con alteraciones en el cromosoma 9 (pérdida de 9p o 9q). La necrosis estaba más asociada con un mayor número de alteraciones cromosómicas, incluida la pérdida del cromosoma 4^[42] ^[43].

Reyes- Botero et al revisaron 50 casos de oligodendrogliomas anaplásicos y encontraron que la imagen de RM con realce de contraste se asociaba a la pérdida de 9p y CDKN2A de manera estadísticamente significativa y con un volumen tumoral más grande, así como a la expresión de genes relacionados con la angiogénesis^[44].

Trabajos más recientes, han evaluado estos aspectos en series más seleccionadas (con oligodendrogliomas con IDH mutado y pérdida de 1p/19q). Estos trabajos señalan el importante papel pronóstico que puede tener la pérdida de 9p/CDKN2A y p16, así como su potencial valor para clasificar el grado tumoral.

En el año 2019 se publicó un estudio francés donde se analizó el valor pronóstico de CDKN2A en 911 casos de glioma de alto grado con mutación de IDH. En 483 casos presentaron mutación de IDH y codelección de 1p/19q y con histología de oligodendroglioma anaplásico, también se analizaron 40 casos de grado II.

Encontraron que la delección homocigota de CDKN2A se relacionaba con peor pronóstico (SLP y SG). También encontraron en el análisis multivariante que en los pacientes con delección homocigota de CDKN2A, la presencia de proliferación microvascular o necrosis perdía relevancia pronóstica, por lo que la delección de CDKN2A parece ser el primer paso de estratificación del riesgo.

No encontraron delección de CDKN2A en pacientes con tumores de grado II. El valor pronóstico de CDKN2A también se confirmó para los pacientes que tenían IDH mutado, pero sin codelección.

Ni la amplificación de CDK4 ni la delección homocigota de RB fueron un factor pronóstico ^[45].

La pérdida del cromosoma 9 como factor pronóstico (dada la localización de CDKN2A/p16), ha sido estudiada en otros trabajos. Alentorn et al analizaron 216 pacientes con tumores oligodendrogliales con pérdida de 1p/19q. La pérdida cromosómica de 9p21.3 se detectó en un 42% de los casos y se asoció a peor pronóstico (tanto en SLP como SG) ^[46].

Michaud K et al., revisaron en su trabajo una serie retrospectiva de 40 casos de oligodendrogliomas anaplásicos y lo compararon con 10 de oligodendroglioma de bajo grado. En este caso la serie cumplía los criterios de mutación de IDH y delección de 1p/19q ^[47].

La cohorte se clasificó en varias categorías: OII, OIII 9p wt, OIII 9p deleccionado.

Encontraron delección en el cromosoma 9p en el 55% de los casos con oligodendroglioma grado III y no presente en el grado II.

En cuanto a p16, en los oligodendrogliomas grado II, la sobreexpresión de p16 se asoció a peor SG.

En los oligodendrogliomas grado III el impacto pronóstico se relacionó con la situación del cromosoma 9p. En los casos con delección de 9p, la ausencia de expresión de p16 se relacionó con peor SLP y peor SG. Sin embargo, en los pacientes con expresión de 9p, una sobreexpresión de p16 se relacionó con peor SG.

Ninguno de los casos con oligodendroglioma grado II presentó delección de 9p. En los oligodendrogliomas grado III se objetivó delección en 55%.

La delección de 9p se relacionó asimismo con un peor pronóstico.

2. Ciclina D1 en oligodendrogliomas

Hay trabajos que han incidido en el estudio de la ciclina D1 en los tumores oligodendrogliales.

Datos de trabajos previos han señalado el aumento de ciclina D1 como paso hacia tumores de mayor grado de anaplasia.

Fiano et al publicaron los resultados de la expresión por IHQ de diferentes compuestos de la vía de las ciclinas. Encontraron que los niveles de ciclina D1 aumentaban con el grado de anaplasia, con una correlación lineal con el MIB1 index labeling ^[48] .

Otros trabajos realizados en modelos animales sugieren que ciclina D1 y CDK4 tienen un papel importante en el desarrollo tumoral de los gliomas, así como en el microambiente tumoral influyendo en el crecimiento tumoral. La pérdida de ciclina D1 impedía el paso hacia grados más altos de malignidad ^[49] .

También se ha analizado el valor pronóstico de la expresión de ciclina D1, encontrándose correlación de la sobreexpresión de D1 y peor pronóstico ^[47].

3. Rb en oligodendrogliomas

La situación de Rb en oligodendrogliomas se ha analizado en algunos trabajos. Se ha descrito que es infrecuente la pérdida de expresión de Rb y que alteraciones de esta vía de las ciclinas son mutamente excluyentes ^[50].

1. 7.Oligodendrogliomas grado II. Revisión de las recomendaciones terapéuticas.

1.7.1 TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

1.7.2 TRATAMIENTO ADYUVANTE CON RADIOTERAPIA EN LOS GLIOMAS DE GRADO II

1.7.3. TRATAMIENTO ADYUVANTE CON QUIMIOTERAPIA EN LOS GLIOMAS DR GRADO II

1.7.1 TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

En los tumores de bajo grado, la cirugía se considera el tratamiento inicial.

El papel de la cirugía de resección amplia frente a solo biopsia ha sido objeto de diversos estudios. De cara a la cirugía, la localización en áreas elocuentes y por otra parte la naturaleza infiltrante de estos tumores, dificulta en ciertos casos una cirugía extensa.

Actualmente hay tendencia a asumir como objetivo una resección lo más amplia posible. Los datos favorables a esta actitud se basan en las siguientes consideraciones [51] [52].

- Mejorar la supervivencia.
- Por otra parte, permite mejorar el diagnóstico: cuando se realiza sólo una biopsia, puede no identificarse las áreas de más alto grado (incluso en aquellos casos que la biopsia sea estereotáctica). Permite asimismo optimizar el estudio molecular.
- Mejor control de las crisis comiciales (nivel de evidencia III)
- Mejora el efecto de masa y la hipertensión intracraneal.

La biopsia estaría indicada para lesiones profundas, incluido el tronco encefálico, y en lesiones difusas y multicéntricas.

Una estimación de resección de <50% de forma preoperatoria debe conllevar a considerar sólo biopsia como procedimiento quirúrgico según algunos autores [53].

En el año 2015 se publicó una revisión sistemática y guías prácticas basadas en la evidencia para el papel de la cirugía en el manejo de los gliomas de bajo grado [54].

Los autores concluyen, en cuanto al impacto en SLP, que existe un nivel de evidencia II para recomendar una cirugía basada en resección total o subtotal en vez de biopsia, siempre que sea posible.

El impacto de la extensión de la cirugía en la supervivencia global tiene un nivel de evidencia III.

En esta revisión sistemática, profundizando en los datos disponibles para valorar el beneficio en SLP y SG, vieron que se habían publicado diversos estudios (19) en los que se había analizado la cuestión de la extensión de la cirugía y la progresión de la

enfermedad, la gran mayoría con evidencia de clase III y sólo en 2 casos con evidencia clase II.

De los estudios de clase II:

1) Hay un estudio en el año 2002 con 28 pacientes para evaluar la extensión de la cirugía de forma prospectiva y encontraron que, tras 9 años de seguimiento, las recidivas eran más frecuentes en aquellos pacientes con cirugías más reducidas ^[55] .

2) En otro estudio del año 2008, con evidencia de clase II, 111 pacientes fueron evaluados después de una resección completa, y encontraron un 52% de riesgo de progresión a los 5 años de la cirugía ^[56]. La imagen postoperatoria realizada reveló que un 59% tenían tumores <1cm, con tasa de recurrencia del 26%,; un 32% entre 1-2 cm y 68% de tasa de recurrencia y un 9% >2 cm, con tasa de recurrencia 89%.

Del resto de estudios, que tienen una evidencia de clase III ^[57] ^[58]^[59] ^[58] .

En cuanto a la supervivencia global, encontraron 35 estudios publicados, todos retrospectivos, en los que se analizaba esta cuestión y se aporta una evidencia de clase III.

En algunos de estos estudios no se encontró correlación entre la extensión de la cirugía y la supervivencia global ^[60] ^[61], pero en la mayoría, se ha encontrado una mayor supervivencia según el grado de resección.

Uno de estos estudios es el publicado por Smith et al. Es un estudio donde se analizó el beneficio en supervivencia en función de la extensión de la cirugía. Se realizó un análisis volumétrico basado en pruebas de imagen pre y postoperatorio en más de 200 pacientes. Encontraron que la extensión de la cirugía se asoció a una mayor supervivencia ^[62]. También Sanai et al encontraron esta relación en una revisión realizada sobre los datos publicados ^[63].

Más recientemente se han publicado también datos sobre el papel de la extensión de la cirugía en relación con determinados tipos histológicos y en concreto con la histología oligodendroglioma. Encontraron que una mayor extensión de la resección quirúrgica se asocia a un aumento de supervivencia global ^[64].

Además, hay que tener en cuenta que, con el paso del tiempo, se han optimizado las técnicas quirúrgicas, como la neuronavegación, a lo que se pueden añadir imágenes de tractografía y electroestimulación para mapeo cerebral lo que ha permitido mejorar la resecabilidad reduciendo las secuelas postoperatorias.

Witt et al realizaron un metaanálisis con 8091 pacientes comparando cirugía con o sin estimulación intraoperatoria y demostraron una mayor tasa de resección completa con el mapeo intraoperatorio [65].

Todas estas consideraciones hay que realizarlas en el contexto de una cirugía que no va a ser curativa y también teniendo en cuenta que es prioritario minimizar la morbilidad de la cirugía.

En resumen, las limitaciones en cuanto a la evaluación del tratamiento quirúrgico son que la mayoría de los estudios son retrospectivos o de casos-control y no se ha realizado una randomización. Sólo algunos han publicado un análisis volumétrico de la extensión de la resección quirúrgica.

Por otro lado, existen consideraciones biológicas que apoyarían la resección completa. En primer lugar, el tumor puede contener focos de alto grado que no queden reflejados en una muestra más pequeña. En segundo lugar, la resección completa puede disminuir el riesgo de desdiferenciaciones futuras hacia un tumor más maligno. En tercer lugar, cuando un tumor de gran tamaño es resecado, puede mejorar los efectos de los tratamientos postoperatorios.

Por lo tanto, en cuanto a la cirugía, la tendencia actual es a recomendar una resección lo más extensa posible, y el estado de la resección debe evaluarse mediante RM dentro de las 72 horas tras la cirugía en secuencias de T2 o FLAIR.

Esta recomendación podemos encontrarla recogida en diferentes guías como las guías americanas National Comprehensive Cancer Network (NCCN) [66] y de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) [53].

1.7.2 TRATAMIENTO ADYUVANTE CON RADIOTERAPIA EN LOS GLIOMAS DE GRADO II.

El tratamiento de radioterapia se considera parte del tratamiento en los gliomas de bajo grado.

Los diferentes estudios han tratado de dar respuesta a cuestiones como cual es el mejor momento de su administración y cual es la dosis óptima.

Se han publicado 4 estudios con nivel de evidencia I:

- 1) En un estudio de la **EORTC 22845** se randomizaron los pacientes a radioterapia precoz frente a radioterapia a la progresión.
- Se incluyeron 311 pacientes.
 - Con un tiempo de seguimiento de 7.8 años
 - En el análisis por intención de tratar, la supervivencia libre de progresión fue de 5.3 años para RT precoz y de 3.4 años para el grupo control ($P < 0.0001$).
 - Sin embargo, la supervivencia global fue igual en ambos casos (7.4 vs 7.2 años), indicando que la radioterapia tardía puede ser una opción en determinados casos. Sin embargo, las crisis comiciales se vieron mejor controladas en los pacientes que recibieron radioterapia precoz ^[67].

Este estudio concluyó que existe un beneficio en SLP, pero no en SG al administrar RT tras el diagnóstico frente a hacerlo a la progresión. Estos resultados se mantuvieron en el análisis de los tumores gliales de bajo grado excluido el pilocítico y los anaplásicos que se diagnosticaron tras una revisión central.

El estudio se inició a mediado de los 80 y presenta varios sesgos: por un lado, la falta de uso generalizado de la RM, por otro la estimación de la resección quirúrgica se hizo en base a la impresión del cirujano. La revisión central modificó el diagnóstico en un 26% a anaplásicos y además no se realizaron cuestionarios de calidad de vida de forma generalizada por lo que no se puede determinar si el tiempo hasta progresión se correlaciona con el tiempo hasta deterioro clínico.

Los autores concluyen que retrasar el tratamiento de RT es factible en pacientes jóvenes solo con clínica de crisis comiciales, sin deterioro neurológico, en los que se haya realizado una resección extensa.

- 2) En el año **2002**, **Karim et al** habían publicado un análisis interino de los resultados de este mismo estudio, cuando se habían producido una mediana de seguimiento de 60 meses (5 años). La SG no fue diferente entre las ramas, a 5 años fue de 63 vs 66%. Se verificó una diferencia estadísticamente significativa en SLP a 5 años de 37 frente 44%. EL TTP fue de 3.4 años frente a 4.8 años ^[68].

Por otra parte, se desarrollaron estudios para valorar la dosis óptima de radioterapia, comparando dosis altas con dosis más bajas de RT. No hubo una diferencia que impactase en supervivencia entre ambas opciones de dosis.

1) En el estudio randomizado **de Shaw et al**

- Se estudió en 203 pacientes el efecto de usar dosis más bajas de radioterapia (50.4 Gy) frente a dosis más altas (64.8Gy).
- Los datos de supervivencia global fueron mejores para aquellos casos con dosis más bajas de radioterapia (a 2 y 5 años fue de 94 y 72% frente a 85 y 64%; $p=0.48$), aunque no estadísticamente significativos.
- Los resultados se consideraron favorables independientemente de la extensión de la cirugía. Los datos identificados como pronósticos fueron la edad, la histología y el tamaño tumoral. Se produjo radionecrosis en un 2.5% de los casos con dosis más bajas y en un 5% de los casos con dosis más altas. El estudio por lo tanto concluyó que las dosis de 50.4Gy son más adecuadas frente a dosis más altas de radioterapia^[69].

2) El estudio de Karim et al, **EORTC 22844** ^[70],

- En 379 pacientes se analizó el beneficio de dosis altas de radioterapia (59.4Gy) frente a dosis bajas (45Gy).
- Tiempo de seguimiento de 74 meses,
- La supervivencia a 5 años fue de 47 vs 50%. No se encontraron diferencias entre ambas dosis de tratamiento. Los factores pronósticos asociados a supervivencia que se encontraron en el análisis multivariante fueron la edad, el tamaño tumoral, las funciones neurológicas y la extensión de la resección. Al igual que los estudios anteriores, los autores concluyen recomendando dosis más bajas de radioterapia (45Gy) frente a dosis más altas.

Además, **Kiebert et al** ^[71] evaluaron 379 pacientes con glioma de bajo grado tratados con dosis de 59.4Gy frente a 45Gy (dentro del estudio EORTC 22044), en relación a aspectos de calidad de vida. No encontraron diferencias en la supervivencia que era el

objetivo primario del estudio. La presencia de fatiga e insomnio fueron más frecuentes con la RT a altas dosis y en general, los pacientes con dosis más altas tuvieron más efectos secundarios. La conclusión de los autores fue la recomendación de dosis más bajas de radioterapia (45Gy) frente a dosis más altas.

Por otra parte, hay diversos estudios que además evalúan aspectos relacionados con el deterioro neurológico en pacientes tratados con radioterapia. En algunos de estos estudios hay evidencia para pensar en la radioterapia como responsable del deterioro neurocognitivo y en las pruebas de imagen de estos pacientes. Por todo ello resulta importante determinar el momento ideal de administración de este tratamiento, así como la técnica de radioterapia utilizada [72] [73].

En resumen, los estudios con nivel de evidencia I indican que la radioterapia administrada tras la cirugía, se asocia a un aumento de la supervivencia libre de progresión, pero no a aumento de supervivencia global, independientemente de la resección quirúrgica.

Estudios con nivel de evidencia III indican que el tratamiento de radioterapia mejora el control de las crisis comiciales en pacientes con epilepsia y resección subtotal. En relación con la toxicidad aguda, incluye fatiga, pérdida de peso y aumento del edema cerebral. Por otra parte, el deterioro cognitivo observado en algunos casos, se ha relacionado tanto con la enfermedad como con los tratamientos, teniendo en cuenta que tanto el tumor en sí mismo, la radioterapia como los tratamientos como corticoides y antiepilépticos pueden contribuir a esta situación [53].

Si se decide la administración de radioterapia, debe restringirse a determinados márgenes. Para evaluar la extensión del tumor debe utilizarse una RM con T2 o FLAIR. El volumen diana clínico está definido por el FLAIR o T2, con un margen de 1-2 cm. La dosis estándar se considera de 45 a 54Gy administrada en fracciones de 1.8-2.0 Gy [66].

1.7.3 TRATAMIENTO ADYUVANTE CON QUIMIOTERAPIA EN LOS GLIOMAS DE GRADO II

Para el manejo de estos pacientes con oligodendroglioma grado II, con quimioterapia adyuvante, disponemos de 2 estudios importantes que nos guían en las recomendaciones terapéuticas:

- El estudio RTOG9802 ^[74] que compara radioterapia con radioterapia seguida de 6 ciclos de quimioterapia con esquema PCV, en los pacientes de alto riesgo
- Por otro lado, está el estudio de la EORTC 22033 ^[75] que compara RT frente a temozolomida.

En ambos estudios el brazo control es la radioterapia.

Brevemente, el estudio RTOG98-02 es un estudio que se inició en 1998 y el objetivo era la supervivencia global. Se incluyeron histologías mixtas (oligodendroglioma, oligoastrocitoma y astrocitoma). En el momento de diseño del estudio no se disponía de datos a nivel molecular.

Este estudio tenía una consideración, catalogaba de bajo riesgos a los pacientes menores de 40 años y pacientes que tenían resección completa. Por lo tanto, los pacientes mayores de 40 años, aunque tuvieran una resección completa se consideraba ya alto riesgo.

Una vez clasificado el paciente según el riesgo de la enfermedad, se establecían dos opciones de tratamiento: en el caso de los pacientes de alto riesgo el brazo control era la RT y el experimental RT+PCV. Los considerados de bajo riesgo pasaban a observación y se les hacía un seguimiento.

La primera comunicación de este estudio se realizó con 6 años de seguimiento y con un 35% de los pacientes fallecidos. En este momento se consideró un estudio negativo ya que no se vio un beneficio en SG.

Pero posteriormente se comunicaron los resultados con un mayor seguimiento, en ASCO 2014 y se publicó en un NEJM en el año 2016, y con 12 años de seguimiento, se ha visto un beneficio importante en SG. El brazo control 7.8 años frente al brazo experimental 13.3 años. Profundizando en las distintas histologías, se pudo apreciar que los pacientes de mejor pronóstico como son los oligodendrogliomas y son los que mejor se van a beneficiar de tratamiento RT→ PCV. Del estudio molecular que se hizo, la mutación de IDH impactaba en supervivencia independientemente del

tratamiento. Se ha podido ver que solo el 60% de los pacientes fueron capaces de completar el tratamiento de QT adyuvante. Este esquema también ha demostrado beneficio en los pacientes de grado III.

El segundo estudio viene a responder a la pregunta de si podemos diferir el momento de administrar el tratamiento de radioterapia, evitando así la toxicidad asociada al tratamiento de RT, como la neurotoxicidad y administrar solo la QT de entrada. De esta manera, en este estudio unos pacientes empezaban con QT, otros RT y cuando progresaban cambiaban al tratamiento complementario. Es un estudio con un diseño sencillo, y los pacientes recibieron tratamiento de quimioterapia con esquema con dosis densas de temozolomida.

Los resultados en SLP (el objetivo primario del estudio), fue similar entre ambas ramas de tratamiento.

Vamos a profundizar en los detalles de estos dos estudios:

1) El estudio **RTOG 98-02**:

- El protocolo del estudio:
- Pacientes de alto riesgo

Rama A: RT con dosis de 54Gy en 30 fracciones

Rama B: RT con dosis de 54 Gy en 30 fracciones → PCV x6 ciclos

PCV: lomutina 110 mg/m² día 1; procarbazona 60 mg/m² días 8-21; Vincristina 1,4 mg/m² días 8 y 19.
Duración del ciclo de 8 semanas

Alto riesgo: pacientes mayores de 40 años con cualquier extensión quirúrgica o <40 años con resección subtotal o biopsia

- Se incluyeron pacientes con diagnóstico de glioma de grado 2: oligodendroglioma (107), astrocitoma (65) y oligoastrocitoma (79) (con revisión central).
- Se incluyeron un total de 251 pacientes con KPS > 60.

- En el año 98 se inició el protocolo RTOG 9802. Periodo de seguimiento de 12 años.
- El objetivo primario del estudio fue la SG.
- En el momento de la última publicación, 67% habían progresado y 55% habían muerto.
- La primera publicación del estudio fue en el año 2012, con una mediana de seguimiento de 5.9 años y 38% de mortalidad.
- De los pacientes en tratamiento el 98% y 93% recibieron tratamiento de radioterapia y en cuanto a la rama que además recibía quimioterapia la mediana de ciclos administrados fue de 3. Un 56% recibieron quimioterapia por protocolo.
- Se determinó la **mutación de IDH** en 113 pacientes. Presentaron la mutación 61% de los incluidos en la rama de RT y 64% de la rama RT→PCV.
- Por histologías: oligodendrogliomas mutación en 78% de los pacientes; astrocitomas 48% y oligoastrocitomas 54%.

Estos son los resultados del estudio:

SLP:

- Los pacientes tratados con RT y PCV tuvieron mayor SLP, con mediana de 10.4 años frente a 4 años en los que recibieron solo RT ($p > 0.001$)
- La tasa de SLP a 5 años fue de 61% vs 44% y a 10 años de 51 vs 21% a favor de la rama con quimioterapia. HR 0.5 $p = < 0.001$.
- Sin embargo, no se pudo ver una diferencia entre ambos grupos los 2 primeros años tras la randomización. Las diferencias empezaron a ser evidentes a partir del momento en que un 25% tuvo progresión y fue cada vez mayor en el tiempo.
- El análisis que se hizo demostró que este beneficio se podía ver en los diferentes histotipos (astrocitoma y oligodendroglioma) de forma estadísticamente significativa.

- IDH mutado fue un factor de mejor pronóstico, independientemente del tratamiento y dentro de los mutados tuvieron mayor SLP si eran tratados con RT y PCV.

SG:

- La mediana de SG fue significativamente mayor para los pacientes tratados con RT y PCV, con una mediana de 13.3 años frente a 7.8 años con RT sola.
- La tasa de SG a 5 años fue de 72 vs 63%
- La tasa de SG a 10 años fue de 60% vs 40%
- La diferencia entre los grupos no se ha hecho evidente hasta aproximadamente 4 años tras la randomización, momento en que habían ocurrido aproximadamente un 25% de las muertes.
- En un análisis según el subtipo histológico, se pudo ver superioridad de la combinación en todos los subtipos histológicos, pero no alcanzó la significación estadística en los pacientes con astrocitoma.
- La mutación de IDH fue un factor de buen pronóstico independientemente del tipo de tratamiento recibido. Entre los pacientes con mutación en IDH los que recibieron el tratamiento combinado tuvieron una mayor supervivencia.

Los efectos secundarios más habituales fueron náuseas, vómitos, astenia y anorexia grado 1 o 2.

Los datos cognitivos recogidos en el MMSE indicaron que tenían una media de puntuación superior al basal durante los 5 primeros años tras la randomización, tanto de los que habían recibido RT sola o en combinación.

En la discusión los autores indican que hay un beneficio en SLP y SG en los gliomas de grado II tratados con radioterapia y quimioterapia, este beneficio parece ser mayor en pacientes con mutación de IDH y en el tipo histológico oligodendroglioma y oligoastrocitoma. Las diferencias no pueden explicarse por los tratamientos recibidos tras la progresión porque en el grupo de RT sola recibieron más intervenciones tras la PGR.

Otro aspecto que se destaca es el hecho que las curvas no se separan hasta que no pasan 2-3 años tras la randomización, cuando aproximadamente un 25% de los pacientes han progresado. Esto también puede observarse con las curvas de

supervivencia global. Por esta razón se plantean si puede deberse a que la radio y quimioterapia no sea igual de efectiva en todos los pacientes (en cuyo caso las curvas empezarían a separarse desde el principio).

Por lo tanto, podría considerarse que hay un grupo de pacientes que pueden no beneficiarse del tratamiento con radioterapia y quimioterapia, pero la identificación de estos casos es a día de hoy imprecisa.

2) El estudio **EORTC 22033-26033**

Diseño del estudio:

Pacientes con glioma de bajo grado con al menos 1 factor de alto riesgo :
>40 años, progresión de la enfermedad, tumor >5cm, tumor que cruza línea media o síntomas neurológicos.

Rama A: Radioterapia 50,4 Gy, 28 dosis, 1,8 Gy/día

Rama B: esquema de dosis densas con esquema de 75 mg/m² durante 21 días en ciclos de 28 días, total de 12 ciclos.

- Se incluyeron pacientes con tumores infiltrantes de grado II (oligodendrogliomas, astrocitoma y oligoastrocitoma).
- Se registraron un total de 707 pacientes, y se randomizaron 477 (el resto no se randomizaron por diferentes causas en el periodo entre el registro y la randomización, entre ellos, en 47 pacientes se transformaron a alto grado, 50 pacientes rechazaron).
- Periodo de seguimiento: mediana de 48 meses (4 años). El estudio se desarrolló entre 2005-2010
- El objetivo primario fue la SLP. El diseño buscaba un incremento del 13% a 5 años en SLP (de 45 a 58% para el grupo con temozolomida), con HR de 0.68.
- Los criterios de inclusión en este estudio era que se considerara necesario algún tratamiento más, a parte de la cirugía. Se consideraron aquellos que fueran >40 años, tuvieran tumor radiológicamente en progresión, empeoramiento de los síntomas neurológicos, o crisis refractarias.
- El periodo de tiempo desde la randomización a la inclusión de pacientes fue variable, porque en una primera fase se registraban para un análisis molecular

y después se randomizaban, cuando clínicamente se consideraba indicado iniciar el tratamiento.

Las características de los pacientes incluidos fueron de una mediana de edad de 45 años y en cuanto a la extensión de la cirugía, 40% solo se biopsiaron, 43% tuvieron resección parcial y 17% resección completa.

Se hizo una revisión de la AP de forma centralizada.

El tiempo transcurrido desde el diagnóstico al tratamiento fue de una mediana de 5.6 meses (0.7 y 12 años).

En el momento que se cerraron los datos, 55% de los casos habían progresado.

Estos son los resultados del estudio:

- La mediana de SLP fue de 46 meses para RT y de 39 meses para temozolomida (3.83 años vs 3.25 años).
- En cuanto a la SG, en el momento de la publicación se había producido un 25% de muertes por lo que no había datos suficientes para un análisis de mortalidad.
- Los datos de calidad de vida no se han reportado.

Han completado el tratamiento 91% en la rama de RT y 75% en la rama de temozolomida. Un 15% de los casos necesitaron reducción de dosis

Se observó toxicidad hematológica grado 3-4 en los pacientes que recibieron tratamiento con temozolomida.

Datos moleculares:

- Se analizó 1p/19q en 357 casos y fue positivo en 117 (33%).
- Se analizó IDH en 392 casos y fue positivo en 83%. En 9 (3%) de los casos se encontró mutación en IDH2.

El estudio no tenía suficiente potencia estadística para realizar análisis de subgrupos.

- Se pudo determinar que había 104 (39%) pacientes IDHmut/codel
- En 49 (15%) casos eran IDH WT.
- Para los pacientes con IDHmut/codel la mediana de SLP fue de 55 meses (4.58 años) para temozolomida y 61.3 meses (5.1 años) para RT. Estas diferencias no alcanzan la significación estadística.

- Los datos analizados indican que los pacientes con IDHmut /non-codel el tratamiento con QT de inicio puede ser deletéreo (55 vs 33 meses a favor de RT), $p=0.0043$.

Se pudo observar que la metilación de MGMT no aportaba información para los casos con IDH mutado.

En la discusión los autores señalan que para los pacientes de peor pronóstico como los IDH wt o IDHmt/non codel, se recomienda un tratamiento más intenso.

Para los pacientes IDH mut /codel el tratamiento es controvertido en base a los resultados de este estudio.

Un aspecto clave en los tumores de bajo grado es poder identificar a aquellos pacientes que se van a beneficiar menos del tratamiento postquirúrgico. En este sentido, **dentro del estudio RTOG9802**, se han publicado los resultados de aquellos pacientes **considerados de bajo riesgo**: menores de 40 años con una cirugía completa. Como hemos visto, en el estudio de la RTOG 9802 se consideraron 2 grupos, de bajo y alto riesgo ^[76].

Estos pacientes de bajo riesgo se mantuvieron en observación.

En estos pacientes se realizó una RM pre y postqx, se registró el diámetro máximo preoperatorio. Se hicieron medidas en la RM postoperatoria por T2-Flair

Las imágenes de la RM postoperatoria fueron catalogadas y se dividieron los casos en 3 categorías: <1 cm, 1-2cm o >2 cm.

Después se realizó seguimiento con RM cada 6 meses. En la imagen de PGR se dividió en 3 categorías: 1) en los 2 cm cercanos a la cavidad de resección, 2) >2 cm de la cavidad de resección, pero en la misma región cerebral, 3) en diferente región del cerebro.

Estos con los resultados de este estudio:

- Se incluyeron 116 pacientes entre 1998 y 2002 y 111 fueron analizados (los otros no cumplían criterios).
- Se publicaron los datos en el 2008 con una mediana de seguimiento de 4.4 años.
- Resultados:
 - o La tasa de SG a 2 y 5 años fue de 99 y 93%
 - o La SLP a 2 y 5 años fue de 82 y 48%.

Si lo comparamos con los datos de los pacientes con factores pronósticos desfavorable (n= 251):

- la SG a 2 y 5 años fue de 87 y 66% (p<0.0001)
- la SLP a 2 y 5 años fue de 73 y 50 % (p=0.13), similar al grupo favorable.
- La mediana de PFS fue de 4.9 años para los pacientes en el grupo favorable y de 5.5 años para el grupo no favorable.

Factores predictivos de peor pronóstico:

Dado el escaso número de muertes, no se pudieron determinar factores predictivos de peor SG.

En cuanto a la SLP, en el análisis uni y multivariante se determinaron 3 factores: 1)

diámetro preoperatorio ≥ 4 cm

2) tipo histológico astrocitoma/oligoastrocitoma

3) tumor residual en imagen ≥ 1 cm.

Si entramos al análisis del detalle de estos 3 factores pronósticos:

1) en cuanto al diámetro preoperatorio

- Tumores <4 cm 27%
- tumores ≥ 4 cm 63%

2) en cuanto al tipo histológico. La tasa de recurrencia fue:

- Astrocitoma y oligoastrocitoma 54%
- oligodendroglioma 32%

3) en cuanto al tumor residual postoperatorio:

De los 111 pacientes analizados el 88% tenían una imagen postoperatoria para evaluar la enfermedad residual:

- 59% tenían <1 cm \rightarrow incidencia de recurrencia 26%
- 32% tenían 1-2 cm de enfermedad residual \rightarrow incidencia de recurrencia 26%
- 9% tenían > 2 cm \rightarrow incidencia de recurrencia 89%

Si se analizaba la presencia de 2 de estos factores de riesgo de recurrencia:

1) astrocitoma y oligoastrocitoma y

- <1cm de enfermedad residual: 28%
 - 1-2 cm de enfermedad residual: 88%
 - >2cm de enfermedad residual: 100%
 - No posible evaluar la enfermedad residual: 57%.
- 2) En el caso de los oligodendrogliomas (50)
- <1 cm→23%
 - 1-2 cm→43%
 - >2 cm→ 75%
 - No evaluables→17%
- 3) En aquellos casos con los 3 factores de mal pronóstico (>1cm, astro/oligoastrocitoma y diámetro preoperatorio \geq 4cm → SLP a 2 y 5 años de 60 y 13%
- 4) Si los tres factores de buen pronostico estaban presentes (<1cm, oligodendroglioma, < 4cm preoperatorio)→SLP a 2 y 5 años 100 y 70%

Una vez que se daba la situación de recurrencia los pacientes recibieron diferentes tratamientos como nueva cirugía (23%), radioterapia 63%, 43% QT. De los pacientes que fueron a cirugía, los resultados patológicos indicaron que la mitad de los pacientes había evolucionado hacia un más alto grado.

El 82% de los casos recayeron dentro de los 2 cm de la cavidad quirúrgica, 16% estaba más allá de 2 cm y 2% de forma discontinua.

En la discusión los autores subrayan que este estudio pone sobre la mesa datos que indican que estos pacientes con pronóstico favorable (menos de 40 años con resección completa), presentan una SLP peor de la esperada, (aproximadamente 50% a 5 años), similar a lo publicado para pacientes de pronostico desfavorable.

Los datos también apoyan el valor de RM de control postquirúrgico, de manera que solo un 59% de los casos tenían una resección completa definida por la presencia de <1cm de lesión residual en RM y estos pacientes tuvieron una tasa de recurrencia del 26% y si había >2 cm fue de 89%. Estos datos indican el carácter infiltrante de estos tumores, y además subrayan el hecho de la falta de precisión del cirujano para estimar la resección completa.

Todos estos datos indican la importancia de seleccionar aquellos casos con mejor pronóstico de cara a los tratamientos postoperatorios a administrar. Por otra parte, está la cuestión de la utilización de temozolomida en el tratamiento adyuvante en sustitución del esquema de PCV dado su comodidad de administración y perfil de efectos secundarios.

Los datos mas importantes proceden del **estudio RTOG 0424** ^[77], que es un estudio de fase II multicéntrico (nivel de evidencia III).

Diseño del estudio, **Fase II** multicéntrico: Temozolomida se administró de forma concurrente a dosis diarias de 75mg/m² y después de forma adyuvante (150-200mg/m²), una vez cada 28 días durante 12 ciclos.

- Gliomas de grado II (oligodendroglioma, oligoastrocitoma y astrocitoma-55%).
Revisión central.
- Se realizó un seguimiento durante 4.1 años y 5 años para supervivencia
- Se trataron 129 pacientes con 3 o mas criterios de alto riesgo (edad mayor de 40 años, tumor preoperatorio ≥ 6 cm, tumor cruzando el cuerpo caloso, histología de astrocitoma, déficit neurológico preoperatorio).
- Se incluyeron pacientes entre enero 2005 y febrero 2009.
- El objetivo era detectar un incremento en la mediana de supervivencia desde 40.5 meses a 57.9 meses (incremento del 43%).

Estos son los resultados:

- Los resultados fueron de una mediana de SG no alcanzada. La tasa de SG a 3 años fue del 73.1% (controles históricos del 54%) y SG a 5 años del 57%.
- En cuanto a la SLP, la mediana fue de 4.5 años, con SLP a 3 años del 59.2%.

Factores pronósticos:

Solo la histología se relacionó con SG en un modelo de Cox (oligodendroglioma/oligoastrocitoma vs astrocitoma).

En cuanto a la toxicidad, eventos hematológicos severos ocurrieron en 10% de los pacientes.

En la discusión los autores indican que al tratarse de un estudio de Fase II, es necesario comparaciones con controles históricos, con los problemas estadísticos que esto supone. Sin embargo, los resultados superan >43% en incremento en la mediana de SG.

Por lo tanto, los datos que tenemos no nos aportan una evidencia científica suficientemente fuerte para saber si temozolomida puede sustituir PCV, pero si se comparan estos resultados con los del estudio RTOG9802 los datos parecen mejores para el esquema con PCV: la mediana de SLP en este estudio fue de 4.5 años y en el estudio de la RTOG9802 de 10.4 años y SLP a 3 años del 59% con temozolomida vs 75-80% en el estudio RTOG9802.

El estudio de **Wahl y cols** ^[78]:

Estudio de **Fase II** de tratamiento adyuvante con temozolomida: temozolomida 200 mg/m² x 5 días cada 28h x 12 ciclos

- Se incluyeron pacientes con gliomas de bajo grado (oligodendroglioma, oligoastrocitoma y astrocitoma), KPS>60. Revisión central.
- Periodo de seguimiento de 7.5 años.
- Se había realizado resección subtotal o biopsia.
- El end point primario fue la tasa de respuesta. Entre 2000 y 2013 se incluyeron 120 pacientes.
- En 97 casos tenían tejido disponible para realizar estudio molecular. El 45% estaban codeleccionados, 37% IDH mut/no codel y 16% IDHWT/1p/19q intacto.

Estos son los resultados:

- La tasa de respuestas fue de 5% en oligoastrocitomas, 7% en oligodendrogliomas y 4% en astrocitomas. El 81% tuvieron EE.
- La mediana de SLP fue de 3.8 años y la mediana de SG fue de 9.7 años.
- En el caso de los oligodendrogliomas la SLP fue de 4.6 años y la de SG fue de 10.8 años. En el caso de los astrocitomas, la SLP fue de 3.3 años y la SG fue de 7.1 años.

- En el caso de 1p/19q codel, la mediana de SLP fue de 4.9 años y SG 9.7 años.
Para los casos IDH mut, mediana de SLP de 3.6 años y SG 11.2 años.

Se midió el KPS, un 14% tuvo mejoría, un 9% empeoramiento y el 96% sin cambios.

A la PGR el 59% fueron a una cirugía de rescate, 45% QT, y 54% RT.

Los autores en la discusión señalan que sus resultados son similares a los de la rama control con RT del RTOG9802 y sugiere que temozolomida puede ser igual de eficaz que RT sola.

Estudio	Diseño estudio	Tratamiento	Criterios de inclusion	OS mediana	PFS mediana	OS%	PFS%	Tiemp seguim	Oligos
Shaw et al	Fase III (n=203)	RT 50.4Gy vs 64.8Gy	GBG (todos)			72% vs 85%		6.43 años	
EORTC 22844	Fase III (n=379)	RT45 Gy vs RT 59.4Gy	GBG (astro, oligoastro y oligo G2) pilo (15pac)			58 vs 59%	47 vs 50%	74 meses (6.2 años)	No datos
EORTC 22845	Fase III (n=311)	Observación vs RT 54Gy	GBG (astro, oligoastro,oligo y pilocítico con resección incompleta)	ITT: 7.2 vs 7.4 años No piloc: 7.1 vs 7.9	ITT:4.4 años vs 5.3 años No piloc: 3.7 vs 4.4	65.7 vs 68.4%	5 años vs 35 % 55 %	7.8 años	No datos
RTOG9802	Fase III (n=251)	RT (54Gy) vs RT (54Gy) + 6 ciclos de PCV adyuvante	GBG de alto riesgo: resección incompleta y/o edad ≥ 40	7.8 años vs 13.3 años HR 0.59 p=0.003	4 años vs 10.4 años HR 0.50 p=0.001	5 años vs 63 vs 72%	5 años vs 44 vs 61%	11.9 años	
EORTC 22033	Fase III (n=707)	RT (50.4Gy) vs temozolomide (dosis densas)	GBG con al menos 1 factor de riesgo (edad >40 años, PGR de la enfermedad, tamaño >5 cm, cruza la línea media	No alcanzada	46 meses RT (3.83 años) y 39 meses temozolomida (3.25 años)			48 meses (4 años)	Codel 33% SLP aprox 5 años
RTOG0424	Fase II (n=129) Comparación con controles históricos	RT (54Gy) con temozolomida concurrente y secuencial (x12ciclos)	GBG con 3 factores de alto riesgo (edad 40 años, histología astrocitara, cruza la línea media, diam6cm, neurológico)	No alc	4.5 años	5 años 57% 3 años 73.1%	3 años 59.2%		No datos

Wahl M et al. (Neuro Oncol 2017)	Fase II (n=125)	Temozolomida ciclos mensuales x 12 ciclos	Enfermedad tumoral residual	9.7 años Oligos: 10.8	3.8 años Oligos:4.6años				Oligos 1p/19q SLP 4.9 SG4.9
RTOG9802 observacion	Fase II (n=116)	Nada	GBG en menores de 40 años con resección completa		5.5 años (grupo desfavorable 4.9)	93%	48%	4.4 años	

1.8.Oligodendrogliomas grado III. Principales estudios clínicos.

- 1) Una cirugía extensa se considera uno de los pilares fundamentales del tratamiento de los gliomas anaplásicos. Una cirugía más extensa se relaciona con una mayor supervivencia, reducción de la presión intracraneal, mejor control de las crisis comiciales, mejor calidad de vida y mejor tolerancia a los tratamientos postoperatorios [63].

Sin embargo, al igual que se ha comentado para los gliomas de bajo grado, los estudios que disponemos son mayoritariamente de carácter retrospectivo y basados en series de casos, en los que también se han analizado diferentes histologías.

Estudios más recientes aportan información y confirman el beneficio de una cirugía más amplia en el contexto de los gliomas de grado III y aportando un análisis volumétrico [79].

Esta recomendación de una cirugía lo más extensa posible se recoge en las guías NCCN y SEOM [66][80].

- 2) Desde los años 80 se estableció la radioterapia como estándar de tratamiento en los gliomas de alto grado.

Se considera un nivel de evidencia I para radioterapia externa tras la cirugía, en gliomas de alto grado. Se basa en 2 estudios randomizados publicados en los años 70, en los que se pudo objetivar un aumento de la supervivencia global [81][82].

Además, un metaanálisis canadiense que incluía 6 estudios randomizados confirmaba un beneficio en supervivencia global. Muchos de estos estudios incluían tanto gliomas de grado III como glioblastomas [83].

La dosis recomendada es de 59.4 Gy en 33 fracciones o 60Gy en 30 fracciones.

- 3) En los años 90 se publicaron trabajos que ponían de manifiesto que son tumores quimiosensibles, a diferencia de otros tumores cerebrales ^[84]. Con estos datos se diseñaron en los años 90 dos estudios de los que mas recientemente acabamos de tener resultados: el estudio de la RTOG 9402 y el estudio de la EORTC 26951. En ambos casos, tras un abordaje quirúrgico inicial se trataba de responder a la pregunta de si la quimioterapia (esquema PCV: lomustina, procarbazona y vincristina), aportaba beneficio al tratamiento de radioterapia.

- 4) Tras iniciar estos estudios fase III se publicaron trabajos que incidían en el hecho que había un subgrupo de pacientes, con pérdida de 1p/19q, que eran particularmente sensibles al tratamiento con quimioterapia (diferencias de cerca de un 100% de respuestas frente a un 25%). Con esta información se realizó una enmienda al protocolo de los estudios de fase III, ya en marcha, para determinar estas alteraciones en los pacientes incluidos en el estudio.

- 5) Los primeros resultados de los estudios fase III se publicaron en el año 2006 (se cerró en el año 2002) y nos indicaban que la quimioterapia postquirúrgica aumentaba la SLP pero no la SG ^[85].

- 6) En esos años también se conoció el papel pronóstico de la metilación del promotor de MGMT en glioblastoma y un poco más tarde el papel pronóstico de IDH en los tumores gliales. Estos aspectos también fueron incorporados al análisis molecular de los casos incluidos en los estudios fase III en oligodendrogliomas anaplásicos. Con los resultados iniciales del estudio del año 2006, con aumento de SLP sin afectar SG, y de una progresiva introducción de temozolomida como sustitución del esquema PCV (más tóxico y complicado de administrar), se dio una situación de enorme variabilidad en cuanto al manejo postquirúrgico de esta patología.

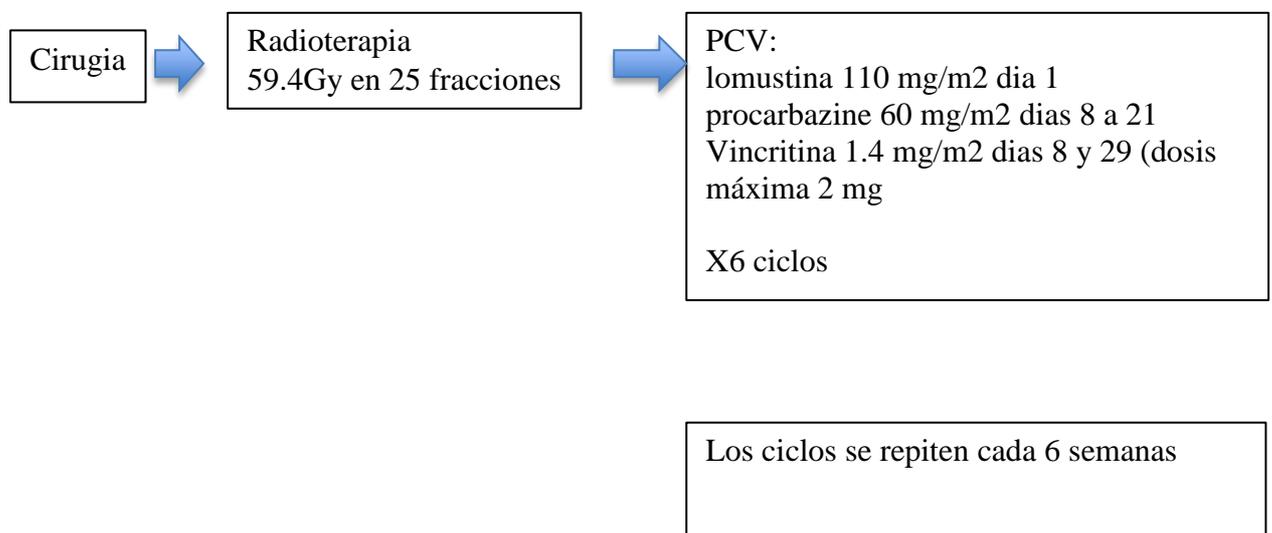
Esta variabilidad en la práctica clínica quedó reflejada en una publicación del año 2007 ^[86]. Se realizó tras una encuesta a miembros de la SNO (Society of Neuro-oncology) y se preguntaba sobre la recomendación de tratamiento. El esquema más elegido era el de utilizar radioterapia concurrente con temozolomida seguido de

temozolomida. Sin embargo, si había pérdida de 1p y 19q, se optaba más frecuentemente por recomendar tratamiento solo con temozolomida.

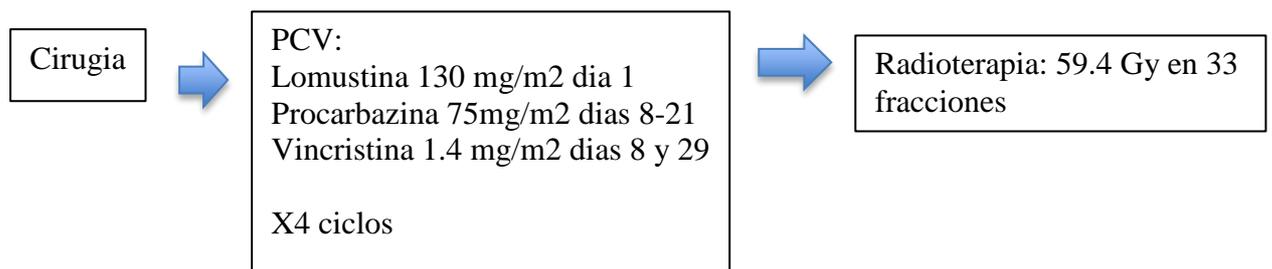
Dicho esto, vamos a revisar con más detalle los estudios de fase III comentados previamente.

Este es el diseño del estudio. Aquí vemos representado el esquema de la rama experimental. Se randomizaron los pacientes frente a radioterapia.

EORTC 26951



RTOG 9402



En ambos estudios había una rama control con radioterapia estándar hasta 60 Gy y una rama con radioterapia más tratamiento con quimioterapia con esquema PCV (Lomustina, Vincristina, Procarbazine).

Los estudios diferían en el momento de administración de la quimioterapia (o bien antes o después de la radioterapia), en el número de ciclos administrados, (6 o 4

ciclos) y también en las dosis de los fármacos administrados (como podemos ver en el esquema).

El protocolo establecía la opción de quimioterapia en el momento de la progresión en los pacientes tratados con radioterapia, por lo que hubo cruzamiento entre ramas.

En el año 2012 se comunicaron los resultados finales de estos dos estudios (de la EORTC y RTOG) y fueron publicados al año siguiente.

En el caso del estudio de la **EORTC 26951** ^[87]:

1. Se incluyeron pacientes con oligodendroglioma anaplasico o con oligoastrocitoma anaplásico (con al menos 25% de elementos oligodendrogliales, según la WHO 1993).
 2. Fueron incluidos un total de 368 pacientes con tumor oligodendrogial entre el año 1995 y 2002, con PS 0-2 y edad entre 16 y 70 años
 3. Periodo de seguimiento de 12 años.
 4. El objetivo primario en el estudio de la EORTC era SLP y SG.
- En el momento de la publicación, el 80% de los pacientes había progresado y un 25% de los pacientes seguían vivos.
 - En el momento de la progresión, tal como marcaba el protocolo, los pacientes recibían quimioterapia. Esto fue más marcado en la rama de radioterapia sola. Podemos decir de cierta manera que el estudio compara quimioterapia precoz frente a quimioterapia más retardada.
 - Las ramas estaban bien balanceadas para los factores pronósticos conocidos.
 - Estos son los resultados del estudio:
 - o añadir PCV a radioterapia aumenta la mediana de SLP de 13 a 24 meses ($p=0.003$) y
 - o la SG de 31 meses (2.55 años) a 42 meses (3.52 años) $p=0.0018$, de forma estadísticamente significativa.

Estos resultados se mantuvieron además al realizar un análisis que incluía estratificación del riesgo por edad, tipo de cirugía, PS y cirugía previa para glioma de bajo grado.

- La siguiente cuestión que trató de contestar el estudio es la de si existe alguna forma de identificar aquellos pacientes que más se van a beneficiar. Para ello se analizaron datos moleculares, de forma prospectiva 1p/19q, y de forma retrospectiva de MGMT e IDH.

- En el caso de 1p/19, se analizó en 316 pacientes y el 25 % resultaron codeleccionados (80 pacientes).
 - Para 1p/19q hay un beneficio en SLP de 50 meses (4.1 años) a 157 meses (13.08 años) $p=0.002$ y
 - en SG de 9 años a una mediana todavía no alcanzada (>12 años) ($p=0.059$).
 - Para los pacientes sin codeleción de 1p/9q, la SLP fue de 9 vs 15 meses ($p=0.026$) y la SG de 25 vs 21 meses ($p=0.185$).

- MGMT se analizó en 183 pacientes y el 75% resultó metilado. IDH se analizó en 179 pacientes, y estaba mutado en el 46%.
 - Factores pronósticos: La codeleción de 1p/19q fue un factor pronóstico (OS 123 vs 23 meses, significativo).
 - De forma similar, el pronóstico también fue mejor (PFS y SG) para los pacientes con metilación del promotor de MGMT y tumores IDH mutados.
 - Factores predictivos: Los que parecen beneficiarse más del tratamiento con PCV son aquellos pacientes con metilación de MGMT, mutación de IDH o confirmación histológica de oligodendroglioma.
 - En un análisis más profundo:
 - Se encontró interrelación entre la metilación de MGMT y la mutación de IDH.
 - Si IDH no estaba mutado, la SG fue similar para los pacientes sin metilación de MGMT que aquellos con metilación de MGMT
 - Además, se analizaron 150 casos en los que se pudieron determinar los 3 aspectos moleculares: codeleción de 1p/19q, mutación de IDH y metilación de MGMT. En un análisis

multivariante, se encontró que solo 1p/19q e IDH fueron factores pronósticos independientes y no MGMT.

Por lo tanto, podemos concluir de este estudio de la EORTC que el tratamiento adyuvante con PCV incrementa la SG en pacientes con oligodendroglioma anaplásico (HR 0.56). En este sentido hay que tener en cuenta varias observaciones:

- Estos resultados se obtuvieron a pesar de que la mediana de ciclos administrados fue de 3 ciclos y solo 30% alcanzaron los 6 ciclos de tratamiento (la mayoría por toxicidad hematológica).
- Además, también se vio un aumento en la SLP estadísticamente significativo.
- La mayor reducción del riesgo de muerte se encontró en los pacientes con la codeleción de 1p/19 (80 casos).
- Hay que tener en cuenta que en la mayoría de los estudios se observa que la duración de la respuesta a la quimioterapia a la PGR tras RT es de unos 12 a 24 meses. Así que el estudio confirma el aumento de SG con la QT al inicio en vez de a la PGR.
- Y además este beneficio se ha podido corroborar con los resultados del estudio de la RTOG9402
- En los pacientes no codelecionados también se ha visto una reducción del riesgo, no significativa, HR0.83.

Los pacientes se incluyeron tras diagnóstico local y posterior revisión central, a diferencia del estudio RTOG9402, y se confirmó el 70% de los casos. Esta tasa de variabilidad interobservador es la descrita para estos tumores.

En cuanto al estudio molecular, resultaron factores pronósticos de supervivencia la mutación de IDH, codeleción de 1p/19q y metilación de MGMT.

En cuanto a los factores predictivos de respuesta, es decir biomarcadores, solo 1p/19q e IDH fueron factores independientes. Estudios recientes indican que la mutación en IDH conlleva un fenotipo hipermetilador de islas CpG y la metilación de MGMT es resultado de este fenotipo hipermetilador.

Los autores concluyen en la discusión que puede considerarse RT—>PCV como nuevo estándar de tratamiento. Después de estos datos sigue pendiente de evaluar el

papel de la temozolomida (en vez de el esquema de PCV) y también buscar el tratamiento de los pacientes sin codeleción de 1p/19q.

También conocimos los resultados finales del estudio de la RTOG 9402 ^[13].

1. Los pacientes tenían diagnóstico de oligodendroglioma u oligoastrocitoma anaplásico y se randomizaban a una rama control con radioterapia estándar y la rama experimental con PCV x4 ciclos intensivo seguido de radioterapia.
2. Se reclutaron 299 pacientes
3. Los resultados que conocimos en 2012 surgen 18 años más tarde tras la inclusión del primer paciente, con una mediana de seguimiento de 11,3 años, y con información de 1p/19q en el 90% de los participantes.
4. El objetivo primario era la supervivencia global.

- En el momento del análisis seguían vivos un 25% de pacientes.
- El 79% de los pacientes que estaban asignados a la rama de radioterapia recibieron PCV a la progresión.
- Sólo el 54% de los pacientes recibió los 4 ciclos de QT programados.
- Las limitaciones que presentes en el análisis de 2006 derivaban del contexto de haberse producido <50% de fallecimientos en los pacientes codelecionados y la falta de información molecular en un 30% de los casos.

Resultados:

- Para el total de población tratada, la mediana de SG fue de 4.6 vs 4.7 años (HR 0.79 p 0.1).
- Se vio un aumento de la SLP 23 vs 13.2 meses p=0.003; HR 0.68

La siguiente cuestión a revisar fueron los datos moleculares:

Los pacientes identificados con codeleción fueron 126 casos (48% del total analizado-263),

- La mediana de supervivencia para este grupo de pacientes fue de 14,7 frente a 7,3 años con HR 0.59 y p=0.03.
- La mediana de SLP fue de 8.4 años frente a 2.9 años con RT sola (p<0.001).

Los pacientes codeleccionados tenían mayor supervivencia y mayor SLP, por tanto, se trata de un factor pronóstico.

En el caso de los pacientes sin codelección no se encontraron diferencias en la mediana de supervivencia estadísticamente significativas, la mediana de supervivencia fue de 2.6 años tras RT→PCV y de 2.7 años para RT sola.

- Sin embargo, si se analiza la separación en la parte final de la curva, sugiere que también hay pacientes sin codelección que se pueden beneficiar del tratamiento con PCV.

Los datos de toxicidad indicaron como principales efectos secundarios relacionados con la quimioterapia, la presencia de mielosupresión, cambios cognitivos, neuropatía autonómica/periférica, disfunción hepática y rash.

Los autores concluyen que podría considerarse la RT y la QT con PCV un nuevo estándar de tratamiento. El estudio pone en evidencia la importancia de tener un diagnóstico preciso y un seguimiento a largo plazo: solo cuando se analizaron las alteraciones cromosómicas y se hizo un seguimiento a largo plazo se detectaron diferencias entre las ramas a estudio. Sin embargo, hay que tener en cuenta que se trata de un análisis de subgrupos y por tanto hay que hacer un análisis cuidadoso de los resultados teniendo en cuenta la potencia y el diseño inicial del estudio. La estratificación retrospectiva según 1p/19q tampoco estaba planificada.

Otras consideraciones serían las relacionadas con la opción de tratamiento con temozolomida, de lo cual no tenemos actualmente una evidencia procedente de estudios de fase III.

En cuanto a la cuestión de los biomarcadores, la codelección de 1p/19q identifica los tumores de crecimiento lento y en este estudio se puede considerar un marcador pronóstico y predictivo.

Sin embargo, hay que considerar que las interrelaciones entre 1p/19q y la respuesta al tratamiento pueden ser más complejas: las curvas no se separan hasta los 5 años y eso sugiere que no todos los pacientes codeleccionados se benefician por igual del tratamiento con RT y PCV, por otra parte, también los pacientes no codeleccionados parecen beneficiarse del tratamiento con PCV (también tras haber alcanzado la mediana de supervivencia).

Estos datos implican que 1p/19q puede ser considerado como un marcador, y no un mecanismo de respuesta a PCV.

No es exacto y es posible que se trate de un componente dentro un grupo molecular que define una familia de OA, dentro de otras alteraciones genéticas, como IDH, hipermetilación o con mutaciones en CIC.

Estos estudios aportaron además respectivos resultados a nivel molecular.

En el estudio de la EORTC 26951 se realizó NGS en las muestras de los tumores incluidos ^[88].

El planteamiento partió de los conceptos en torno a la variabilidad interobservador que existe para el diagnóstico de estos tumores y que tumores con una apariencia macroscópica similar se ha visto muy diferente evolución.

Además, los datos más recientes han indicado que el análisis molecular parece tener un papel pronóstico importante, así como predictivo, y de hecho se ha encontrado una mejor correlación con el pronóstico según los datos moleculares, comparado con los datos histológicos.

Partiendo de muestras en parafina se realizó un análisis de las mutaciones en ATRX, P53, IDH1, IDH2, CIC, FUBP1, PI3KC, TERT, EGFR, H3F3A, BRAF, PTEN y NOTCH, y alteración en el número de copias para los cromosomas 1p/19q, 10q y 7. Se analizaron las mutaciones en TERT por PCR.

Se pudieron analizar 139 casos (de un total de 368 pacientes incluidos en el estudio), que fueron clasificados en varias categorías:

- tipo I en 49 casos (codeleción de 1p/19q, “oligodendroglioma”),
- tipo II en 20 casos (IDH mutados, “astrocitoma”), no codeleción.
- tipo III en 55 casos (7+,10q- o TERT mutado y 1p/19q intacto, “glioblastoma”).

Esta clasificación molecular se vio que tenía una implicación pronóstica y se correlacionaba mejor con la evolución que la propia histología.

La supervivencia a 5 años fue del 71% para los de tipo I, del tipo II del 47% y del 6% para los tipo III. Las medianas de supervivencia para el tipo I fueron de 9.3 años y para el tipo III de 1.1 año. Para el tipo II la mediana de supervivencia fue de 3.1 años.

En conjunto se encontró IDH mutado en 68 casos (66 IDH1 y 2 IDH2). En 50 casos se encontró codeleción de 1p/19q (NGS confirmó más casos que por la técnica de FISH en 20 casos, en los que además se encontró la mutación de TERT y mutación de IDH).

Las mutaciones en TERT se encontraron en el 75% de los casos

Se encontraron las siguientes alteraciones en el subgrupo clasificado como tipo I: deleción de 1p/19q (100%), IDH mutado (98%), TERT mutado (98%), CIC mutado (59.2%); FUBP1 (40.8%); NOTCH1 mutado (22.4%), PIK3CA (4.1%). Cromosoma 7 normal (94%), EGFR no amplificado 100%, pérdida de 10q en el 12%, EGFR no amplificado (0%), ATRX mutado 2% (1 caso), p53 mutado en 8.2% (4 casos), PTEN mutado en ninguno (0%).

De forma global:

Prácticamente todos los de tipo I tienen mutación en IDH y TERT. Ninguno de los casos mostró pérdidas en 10q ni inestabilidad en cromosoma 7.

Los de tipo II tienen mutación en p53 (95%) y mutación en ATRX en un 65%.

Las mutaciones en TERT estaban presentes en el 95% de los clasificados como tipo III y en un 98% de los clasificados como tipo I.

Las mutaciones en CIC y FUBP1 fueron encontrados en los tumores clasificados como de tipo I.

Las mutaciones en ATRX fueron encontradas en un 65% de los tumores clasificados como de tipo II (excepto 1 caso que era del subgrupo de tipo I).

Las mutaciones en PTEN se encontraron asociados al grupo III.

La pérdida de 10q estaba presente en tumores IDH mutados, pero sobre todo en el tipo III.

También como concepto general, las mutaciones en IDH estaban inversamente correlacionadas con las pérdidas de 10q, inestabilidad en el cromosoma 7, y amplificaciones en EGFR, y se vio una correlación directa con mutaciones con CIMP y pérdidas de 1p/19q.

Por otra parte, las pérdidas de 1p/19q, tenían correlación con mutaciones en CIC y FUBP1

Y además las mutaciones en TERT estaban relacionadas de manera inversa con mutaciones en ATRX y p53.

Otro dato interesante es que se pudo observar un grado de concordancia entre la revisión histológica centralizada y el estudio molecular en un 59% de los casos. En cuanto al valor pronósticos, en el análisis univariante, se encontró significación para la combinación de dos factores: 1) mutación de TERT y estado de 1p/19q y 2) la presencia de pérdida de 10q con, o bien la amplificación de EGFR o bien desbalance de cromosoma 7.

Con análisis CTREE, de todos los factores analizados, el que tuvo un impacto pronóstico más importante fue la mutación de IDH, y después, la pérdida de 10q. En el análisis multivariante, se comparó el impacto pronóstico de la clasificación molecular, con el de la revisión histológica central, resultando favorable para el diagnóstico molecular.

En los tumores con codelección de 1p/19q, el pronóstico no se vio afectado por la mutación en CIC o FUBP1, ni NOTCH ni mutaciones en p53 ni las alteraciones en 7 o 10q.

En términos de valor predictivo de respuesta a la quimioterapia, se encontraron 3 factores: metilación de MGMT-STP27, la situación de MGMT combinado con la mutación de IDH y desbalance en el cromosoma 7 (este último bastante distorsionado por la presencia de 3 largos supervivientes con delección de 1p/19q).

Los autores en la discusión concluyen que la técnica de NGS tiene un importante potencial para la clasificación molecular de los gliomas. Se pudieron analizar hasta el 96% de las muestras a pesar del largo tiempo en parafina (>10 años)

Por otra parte, el diagnóstico molecular tiene una significación pronóstica más importante que el estudio histológico.

Otro aspecto a destacar es que este estudio pone sobre la mesa la importancia de la consistencia molecular, que se puede determinar al analizar un número más extenso a nivel molecular, de manera que los hallazgos implican una mayor certeza en el diagnóstico, con una mayor especificidad, por ejemplo, al tener en cuenta hallazgos que puedan ser mutuamente excluyentes (como ATRX y TERT), o presencia de datos que suelen darse conjuntamente (como la delección de 1p/19q y CIC).

También hay que destacar que la detección de la pérdida de 1p/19q fue mayor con NGS que con la técnica de FISH (además con una estrecha correlación con otros

datos como la mutación de TERT e IDH), señalando por tanto que se trata de una técnica con mayor sensibilidad.

Además, se analizaron los factores pronósticos, y se identificaron la presencia de mutaciones en IDH, mutaciones en TERT en relación con 1p/19q y pérdida de 10q. Además, esta clasificación molecular tiene un valor predictivo. Tanto este estudio de la EORTC como el de la RTOG indican que no solo 1p/19q tienen un valor predictivo. En el estudio de la RTOG es la mutación de IDH el principal factor para predecir respuesta a la quimioterapia con PCV. En el estudio de la EORTC se encontró MGMT como principal factor predictivo, mientras que IDH no tenía peso suficiente. CIMP y también la metilación de MGMT por el método Illumina H450 Beadchip (MGMT-STP27) fueron factores predictivos, en otro de los estudios realizados a nivel molecular dentro del estudio de la EORTC [89].

Esta discordancia puede relacionarse con el porcentaje de IDH mutados que fue del 50% en el estudio de la EORTC y en el de la RTOG fue el 74%. En el último caso IDH (además de 1p/19q) resultó ser un factor predictivo de respuesta a PCV (no fue así en el de la EORTC, pero hay que tener en cuenta el escaso número de casos que había). La metilación del promotor de MGMT si resultó ser un factor predictivo de respuesta en el estudio de la EORTC.

Además, hay que tener en cuenta que el estudio de la EORTC ha incluido hasta un 41% de pacientes que desde el punto de vista molecular los hubiéramos clasificado como glioblastomas y no hubieran sido incluidos en el estudio.

Los datos moleculares relacionados con el estudio de la RTOG9402 sobre todo se focalizaron en buscar si se podían incorporar marcadores para predecir beneficio del tratamiento en supervivencia a parte de 1p/19q [90].

Se buscó sobre todo mutaciones en IDH y un polimorfismo asociado a alto riesgo de mutación en IDH.

Los datos de los que se partía eran:

- La mediana de seguimiento de este estudio fue de 11.3 años
- La mediana de supervivencia fue similar (4.6 vs 4,7 años)
- La codelección resultó ser un factor pronóstico, ya que los pacientes con codelección viven más independientemente del tratamiento recibido y un factor

predictivo, ya que los pacientes viven más con el tratamiento con PCV (mediana de supervivencia de 14.7 vs 7.3 años) $p=0.003$

- En los pacientes no codeleccionados la supervivencia fue similar (2.6 vs 2.7 años). Pero la supervivencia a 10 años fue significativamente mayor para los tratados con RT-PCV (25 vs 10% $p<0.05$).

Datos nuevos en esta publicación:

- La mutación en IDH se pudo realizar en 210 de 291 pacientes (72%)
- La mutación de IDH estaba presente en el 74% de los tumores (156 casos)
- Los pacientes con mutación viven más que los no mutados, es por tanto un factor pronóstico.
- Para pacientes con mutación en IDH la supervivencia fue mayor con el esquema con PCV (9.4 vs 5,7 años).
- En los que no se encontró mutación no había diferencias en SG (1.3 vs 1.8 años) y tampoco en supervivencia a 10 años (6 vs 4%).

- También se ha mirado la situación para aquellos pacientes que tienen codelección y mutación de IDH.

- Había datos sobre la codelección y mutación en 208 de 291 casos (71%)
 - Los pacientes con ambos, mutación de IDH y codelección fueron los que tuvieron mayor supervivencia (14.7 años con PCV)
 - Los mutados no codeleccionados, supervivencia intermedia (5.5 años con PCV)
 - No mutados y no codeleccionados: 1 año
 - Por otra parte, los mutados, codeleccionados se benefician de RT-PCV (SG de 14.7 vs 6.8 años $p=.01$)
 - Los mutados no codeleccionados también se benefician de Quimioradioterapia (5.5 vs 3.3 años, $p=.045$)
 - En estos casos ATRX positivos vivían más que los ATRX negativos (11 vs 2.7 años).

- Los tumores no codeleccionados y no mutados no se beneficiaron de la combinación (1 vs 1.3 años p=.97).
- Por otra parte, se analizó el alelo G, y se ha visto que la SLP fue mayor con QT/RT en presencia de este alelo y una tendencia a mayor SG.

Por lo tanto, podemos concluir que en OA y AOA el beneficio en supervivencia global con el tratamiento de RT/PCV puede estar correlacionado con las mutaciones en IDH1.

	N de pacientes	T de seguim	SG (años)	SLP	SG (1p/19q) años	SLP (1p/19q) años	Observaciones datos moleculares	otras
EORTC 26951 (RT vs RT→PCV x6 Estudio fase III)	368	12 años	2.55 vs 3.52 (sig)	13.2 mes vs 24.3 (sig)	9.3 vs no alcanzada (no sug) HR 0.56	4.1 vs 13.08 (sig)	-1p/19q el 25%(80 casos) - Factores Px: IDH mut, MGMT met, 1p/19q cod - Fac pred: IDH mut, MGMT met	Solo el 30% completaron 6 ciclos de tto -Revision central confirmo el 70% -
RTOG 9402 (RT vs PCV x4→R) Fase III	291	11.3 años	4.6 vs 4.7 (no sig)	1.7 vs 2.6 añ (sig)	7.3 vs 14.7 años(sig)	2.9 vs 8.4 años (sig)	- Codel 48% -IDH mut 74% -88 casos mut y codel	54% recibieron 4 ciclos
NOA 04 RT vs PCV vs TMZ Fase III	318 pac	9.5 años	6.5 vs 8 años (No sig)	2.7 vs 2.5 años (no sig)	No alc RT y PCV vs 8 a temo	8.6 RT 9.4 pcv 4.46 temo		
RTOG Br0131 Tmzx6→RT Fase II	40 pac	8.7 años	No alcanza da	5.8 años	No alc (74% a 7 años)	No alc		
Lassman. Restrospectivo	1040pac 308 codel	5.2 años	6.3 a	3.1 a	8.5 a	4.5 a		

Está además el estudio retrospectivo de Lassman y cols ^[91]. Se revisaron 1013 pacientes diagnosticados de oligodendroglioma (incluido oligoastrocitomas), entre 1981 y 2007 con diferentes opciones de tratamiento (RT sola, QT+RT, QT sola u otras estrategias).

La localización predominante fue el lóbulo frontal (56%), seguido del lóbulo temporal (17%) y parietal (12%).

Se encontró codeleción en 1p/19q en 301 casos (48%) de 631 en los que había información, y ausencia de codeleción en 242 (38%). El resto tenían una delección parcial.

En cuanto al tratamiento, todos tuvieron un procedimiento quirúrgico, 11% fue de solo biopsia.

Tras la cirugía recibieron:

- Radioterapia 200 pacientes (20%),
- Quimioterapia seguido de radioterapia 135 casos (13%)
- Rt + quimioterapia concurrente en 112 pacientes (11%)
- RT seguido de quimioterapia en 281 casos (28%)
- Quimioterapia sola en 201 casos (20%)
- Otros en 20 casos (2%)

Hubo un importante cruzamiento entre tratamientos a la progresión de la enfermedad.

Tras un seguimiento de una mediana de 5.2 años, la mediana de supervivencia global fue de 6.3 años y tiempo hasta progresión fue de 3.1 años.

La mediana de supervivencia global según el tratamiento recibido fue de:

- Quimioterapia sola: 7 años
- Quimio-radioterapia (secuencial y/o concurrente): 7.3 años (la diferencia no es estadísticamente significativa).
- Radioterapia sola: 4.4 años (significativamente más corto que QT sola o QT-RT)

La mediana de TTP fue de:

- Quimioterapia sola de 2.8 años
- Quimioterapia y radioterapia de 4.1 años (significativamente superior que para quimioterapia sola).
- Radioterapia sola 1.8 años (significativamente menos que quimioterapia sola).

Se realizó también un análisis en función de las alteraciones cromosómicas de 1p/19q: La codelección 1p/19q se relacionó con mejor SG y el TTP, por lo que resultó ser un factor pronóstico.

En los casos con codelección, se analizaron los datos en supervivencia según el tratamiento recibido. El tiempo hasta progresión fue de:

- Quimioterapia-radioterapia: mediana de 7.2 años
- Quimioterapia sola: mediana de 3.9 años (significativamente menor que para quimio-radioterapia).
- RT sola: mediana de 2.5 años (significativamente menor que los que recibían solo quimioterapia).

Las diferencias en mediana de supervivencia global no alcanzaron la significación estadística:

- 8.4 años para quimio y radioterapia
- 10.5 años para quimioterapia sola
- 8.7 años para radioterapia sola

Para comparar la eficacia del esquema de quimioterapia con temozolomida frente a PCV, se analizó la supervivencia en aquellos casos con codelección tratados solo con quimioterapia sola:

- La mediana de TTP fue mayor para PCV: 7.6 años frente a 3.3 años ($p=0.018$)
- La mediana de supervivencia global fue también favorable para el esquema con PCV: 10.5 vs 7.2 años ($p=0.16$)

Cuando se compararon ambos esquemas en los pacientes tratados con radio y quimioterapia tanto la TTP como SG no fue diferente entre ambos esquemas.

Para los pacientes sin codelección, la mediana de SLP y SG fue mejor para los tratados con radioterapia y quimioterapia comparado con los tratamientos en monoterapia. La mediana de SG para los pacientes sin codelección fue de:

- RT/QT: 5 años
- QT sola: 2.2 años
- RT sola: 1.9 años

Los factores pronósticos más importante encontrados en el análisis univariante fueron:

- KPS, edad, la extensión de la resección y la situación de la codeleción.

Otros factores que también resultaron pronósticos fueron: el tipo de tratamiento, la localización (frontal frente a otras), y la histología (OA frente AOA)

En la discusión los autores justifican el peso de esta revisión retrospectiva basándose en la rareza de este tumor. Consideran que queda confirmado el papel de la deleción de 1p/19q, la extensión de la cirugía y KPS en cuanto a supervivencia global. El estudio también sugiere un mayor beneficio con la quimioterapia con el esquema PCV frente a temozolomida.

En la población general, el tratamiento con RT y quimioterapia (concurrente y/o secuencial), aumenta la SLP pero no la SG frente a QT sola. La RT en modalidad única se asoció a un peor pronóstico.

En cuanto a los pacientes codelecionados, SLP fue mejor para Quimio/radioterapia que quimioterapia sola, pero la diferencia no alcanzó la significación estadística. Las diferencias en SG no alcanzaron la significación estadística. También en este caso la SLP fue más corta para RT que para quimioterapia.

En los casos no codelecionados, la SLP y SG fue mejor para la terapia combinada de RT y QT.

Por otra parte, los datos del estudio señalan un mayor beneficio de la quimioterapia con PCV frente a temozolomida, en los casos con codeleción, con una diferencia de más de 4 años. Si bien hay que tener en cuenta que no hay datos prospectivos que comparen la eficacia de ambos esquemas de tratamiento.

El estudio NOA 04 (que analizamos a continuación), establece también una comparación entre ambas ramas de tratamiento, pero el tamaño de ambas ramas es pequeño y no tiene potencia para comparaciones entre ambas ramas. Por otra parte, un aspecto a tener en cuenta es el de la toxicidad, que es mayor en el caso del esquema PCV, pero estos datos no han quedado recogidos en este estudio retrospectivo.

Por último los autores hacen una reflexión sobre las limitaciones de este estudio, al ser un estudio de carácter retrospectivo. Además, no se ha realizado una revisión central de la extensión de la cirugía ni de la progresión. Tampoco se ha recogido de forma detallada información sobre la duración de los tratamientos o los datos de los tratamientos tras la progresión y su posible impacto en la supervivencia global.

Asimismo, el estudio carece de una revisión centralizada del diagnóstico histológico.

Se puede decir que los resultados del estudio sugieren que un tratamiento combinado de RT y QT conllevan un mayor beneficio en términos de control de la enfermedad y supervivencia global comparado con RT o QT en monoterapia.

Otro de los estudios relevantes en los últimos años sobre gliomas anaplásicos es el NOA04 [92].

En este estudio se incluyeron pacientes con glioma grado III (oligodendroglioma, astrocitoma y oligoastrocitoma anaplásico) y se randomizaron a recibir o bien radioterapia o bien quimioterapia (PCV o temozolomida) y a la progresión realizar el tratamiento no realizado en la primera línea.

Hubo una primera publicación en el año 2009

- Se incluyeron 318 pacientes, se randomizaron 160 a la rama de radioterapia Rama A) y 78 en la rama de PCV (Rama B1 x4 ciclos) y 80 tratados con temozolomida (Rama B2x 8 ciclos).
- Con un tiempo de seguimiento de 54 meses (4.5 años) aproximadamente el 43% habían alcanzado el TTF.
- El objetivo primario del estudio fue el tiempo a fallo de tratamiento (TTF). Se definió como el tiempo hasta que se producía la segunda progresión.

Resultados:

- La mediana de TTF fue de 43.8 meses (3.64 años) para QT seguido de RT y de 42.7 (3.55 años) meses para radioterapia seguido de QT. HR para rama B1 y rama B2 fue de 1.2.
- La mediana de SLP fue de 30.6 meses (2.55 años) con radioterapia y 31.9 meses (2.65 años) con quimioterapia. ($p=0.87$). Sin diferencias entre temozolomida y quimioterapia con PCV.
- La mediana de supervivencia global no fue diferente entre los grupos (72 vs 82 meses), 6 años vs 6.8 años.

También se analizaron factores moleculares:

- Se detectó codeleción de 1p/19q en 41% de los casos (en 14% de astrocitoma anaplásico, 77% de oligos anaplásicos y en 58% de oligoastrocitoma anaplásico).
- Se encontró metilación de MGMT en 60.9% de los casos analizados.

-Se encontró mutación de IDH en 65.6%. Las mutaciones en IDH2 se encontraron en 3.1% de los casos.

En el análisis multivariante encontró como factores pronósticos: la extensión de la resección, la histología, mutación en IDH1 y metilación de MGMT (no en astrocitoma anaplásico). La presencia de la metilación del promotor de MGMT se asoció aun aumento de SLP no solo en las ramas B (con quimioterapia), sino también en la rama A con radioterapia.

En la discusión, los autores concluyen que el estándar de tratamiento para tumores oligodendrogiales debiera ser radioterapia o quimioterapia, pero no su combinación (en el contexto de este momento donde los resultados de los estudios con PCV indicaban un aumento de PFS pero no SG).

También argumentan que, por otra parte, resultó menos probable que los pacientes recibieran tratamiento a la recurrencia cuando el tratamiento inicial había sido la radioterapia comparado con cuando había sido quimioterapia, aunque la incidencia de toxicidad aguda ha sido más importante si estaban recibiendo quimioterapia que radioterapia.

Todos los datos previos llevan a los autores a recomendar quimioterapia como primera línea de tratamiento.

Posteriormente se publicó el seguimiento a 9.5 años ^[92]. El objetivo principal, recordemos era el del tiempo hasta fallo del tratamiento (TTF) definido como la progresión tras 2 líneas de tratamiento.

El 64% tenían <50 años, 80% resección completa o parcial, 90% tenían KPS >80. En este momento del seguimiento, un 67% había alcanzado el TTF y aproximadamente la mitad de los pacientes había fallecido.

Los datos de la rama de tratamiento B1/B2 vs A fueron

- La mediana de SLP fue de 2.7 vs 2.5
- TTF: 4.4 vs 4.6
- OS: 6.5 vs 8

Por tanto, no se encontraron diferencias entre las dos ramas, aunque la mediana de supervivencia resultaba favorable a la rama A.

Se realizaron biomarcadores en 198 pacientes y se analizaron los siguientes aspectos:

- La histología: La SLP, TTF y SG fueron mejor en oligodendroglioma comparado con astrocitoma.

- En cuanto al pronóstico, la clasificación molecular basada en IDH,1p/19q fue superior a la clasificación histológica.

Se confirmó la importancia de IDH como factor pronóstico.

- Cuando se comparó Temozolomida y PCV los pacientes con CIMP y codelecionados, tuvieron mejor SLP y tendencia a mejor TTF con PCV vs temozolomida (mediana de 9.4 vs 4.46 años)

Los datos sugieren una mayor SLP con RT comparado con temozolomida, y resultados similares de RT y PCV.

- La metilación de MGMT se asoció a mejor SLP en pacientes tratados con QT si tenían IDH WT.

Como conclusión, los datos a largo plazo no indican que la eficacia de RT o QT sea diferente, ni por subgrupos histológicos ni moleculares en gliomas anaplásicos.

En la discusión los autores ponen en contexto estos resultados a largo plazo los datos de los demás estudios publicados, entre los que se encuentran los estudios de fase III que comparaban quimio-radioterapia con radioterapia y que se han revisado previamente.

El estudio NOA04, confirma una equivalencia de quimioterapia con radioterapia, por lo que no sustentan la utilización de monoterapia en esta patología, teniendo en cuenta que los otros estudios de fase III han podido confirmar un aumento del beneficio de la combinación de quimio-radioterapia comparado con radioterapia sola. Aunque no alcanza la significación estadística, los datos del NOA04 apoyan el tratamiento con RT frente a quimioterapia en monoterapia.

Los resultados del estudio NOA04 también se han analizado teniendo en cuenta los resultados del estudio basado en un análisis retrospectivo de Lassman (analizado

previamente), y se ha podido verificar que en pacientes codeleccionados, la QT sola se asocia a una mediana de supervivencia de 10.5 años y con QT/RT de 8.4 años.

Los pacientes tratados con solo RT en el estudio NOA04 han ido mejor que la misma rama en los estudios de fase III. Pero los datos son todavía inmaduros para aquellos pacientes con histología oligodendrogial, donde no se ha alcanzado el 50% de eventos para el cálculo de la supervivencia global.

También en la discusión del trabajo, los autores señalan la información aportada por el estudio para comparar los esquemas de quimioterapia con PCV frente a temozolomida sola, con una mejor PFS (datos de TTF y OS todavía no maduros), en el caso de los pacientes codeleccionados. También en el estudio retrospectivo referido previamente de Lassman y cols, había datos a favor de PCV relativamente a temozolomida en los pacientes codeleccionados.

En cuanto al estudio molecular, el estudio NOA04 da información sobre la importancia de los datos moleculares para establecer grupos pronósticos (mejor que la histología): IDH define un grupo característico y de hecho, los tumores con IDH WT tienen un mal pronóstico, con un curso clínico similar al glioblastoma.

Este estudio también señala que la codelección es predictiva de una mejor evolución con quimioradioterapia. Por otra parte, MGMT tiene un valor predictivo, pero solo en los casos con CIMP negativo.

Tenemos también el estudio RTOG BR0131^[93]. Es un estudio de fase II.

Este estudio se diseñó con un esquema de quimioterapia en vez de temozolomida. Por lo demás el diseño es similar al de la rama experimental en el estudio de la RTOG9402: tras la cirugía se administra quimioterapia con temozolomida seguido de radioterapia.

Esta administración previa a la irradiación permite las ventajas de ver el verdadero beneficio de la quimioterapia antes de la irradiación, además de optimizar el tratamiento en ausencia de los cambios vasculares producidos por la irradiación y asimismo tratar en el tumor los bordes infiltrantes que pueden ir más allá de la irradiación.

Se incluyeron oligodendrogliomas y oligoastrocitomas anaplasticos (con al menos 25% de componente oligodendrogial).

La mediana de seguimiento en la primera publicación (año 2008) fue de 29.4 meses (2.45 años).

El tratamiento de temozolomida se administró con dosis de 150 mg/m² día en los días de 1-7 y de 15-21 en ciclos de 28 días durante un total de 6 ciclos.

Después se administraba RT (un total de 59.4 Gy en 33 fracciones) con temozolomida a dosis de 75 mg/m²/día durante 42 días. El objetivo primario fue la tasa de respuesta a los 6 meses, en el momento previo al inicio de la RT.

Se incluyeron 42 pacientes en 2 años (entre 2002 y 2004), elegibles 39, con una mediana de edad de 45 años. Se realizó 1p/19q en 36 casos (92%). En 22 pacientes (61.1%) se encontró codeleción de 1p/19q.

- 64% recibieron el tratamiento de QT completo
- Toxicidad no hematológica menos de grado 3 en 74.4%.
- 38% tuvieron toxicidad hematológica grado 3
- El objetivo primario fue la tasa de respuesta a 6 meses:
 - o Hubo PGR en 10% (frente a un 20% observado con el esquema PCV en el estudio RTOG9402).
 - o Respuesta parcial un 26%
 - o Respuesta completa un 6%
 - o Estabilidad 52%
 - o De los pacientes con PGR en ningún caso tenían codeleción de 1p/19q.

En el año 2015 se ha publicado una actualización de este estudio ^[94], con una mediana de seguimiento de 8.7 años. La mediana de supervivencia global todavía no se ha alcanzado. La mediana de SLP es de 5.8 años.

Para los pacientes que tenían codeleción la mediana de SLP no se ha alcanzado (el 74% de los casos siguen vivos tras 7 años), ni tampoco la mediana de SG. Para los pacientes sin codeleción, la mediana de SLP fue de 1.3 años.

Este estudio pretende, por tanto, dar información sobre el papel que pueda tener temozolomida en el tratamiento de estos tumores, teniendo en cuenta su utilización de forma estándar en los gliomas de grado IV.

No hay por el momento estudios que comparen directamente la eficacia de uno frente a otro esquema.

En concreto, el diseño del estudio ROTG 9402 y BR0131 fueron muy similares:

RTOG 9402 PCV_{x4}→RT

BR 3101 Temozolomida x6→RT

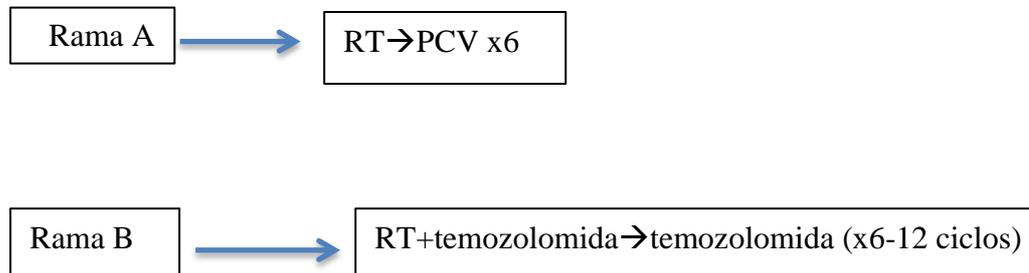
No obstante, si queremos responder a la pregunta si es mejor PCV o temozolomida, habrá que esperar los resultados del estudio CODEL

El estudio CODEL se inició en el año 2009 y está previsto completar los datos en octubre 2025.

Está previsto incluir un total de 360 pacientes.

Es un estudio de la EORTC en conjunción con los canadienses, de fase III.

Este es el diseño del estudio



De este estudio se ha publicado una parte de su análisis inicial ^[96] :

En la parte publicada se dan a conocer los resultados del análisis de los pacientes tratados en el diseño inicial del estudio CODEL.

Las ramas iniciales constaban de una rama de RT sola (rama A), RT con temozolomida concomitante y adyuvante (rama B), temozolomida sola (rama C). El objetivo primario era la SG.

Tras un seguimiento de 7.5 años, 83% de los pacientes con temozolomida habían progresado vs 37.5% con RT. Las diferencias fueron estadísticamente significativas. Las diferencias en mortalidad no alcanzaron la significación estadística (25 vs 16%). Como conclusión, la rama con temozolomida sola presenta menor SLP que las ramas

con RT. En base a estos resultados más los resultados de los estudios de fase III RTOG 9402 y EROTC 26951, el estudio CODEL se ha rediseñado para comparar RT+ PCV vs RT+ TMZ.

Tras los resultados de estos estudios, otra cuestión que queda pendiente es la de qué hacer con los pacientes sin codeleción.

Para responder a esta pregunta va a ser de gran utilidad tener los resultados de estudio en marcha CATNON. Este estudio compara tras la cirugía, en pacientes sin codeleción, el tratamiento con radioterapia sola, frente a radioterapia y temodal concurrente, frente a radioterapia y 12 meses de temodal adyuvante o bien radioterapia con temodal concurrente y luego adyuvante.

2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS.

2.1 HIPOTESIS

La hipótesis de este trabajo es que una caracterización molecular de los tumores oligodendrogiales basado en los criterios diagnósticos de mutación de IDH y codeleción de 1p/19q así como determinados elementos de la vía de las ciclinas puede tener un impacto en el pronóstico de estos pacientes. Las diferencias pronósticas podrían tener implicaciones terapéuticas en estos tumores.

Para desarrollar esta hipótesis se han establecido dos planteamientos:

- 1) Determinar la implicación pronóstica derivada de la clasificación de la OMS de 2016 en base a parámetros moleculares.

En los tumores oligodendrogiales, la clasificación con criterios de la OMS de 2016 incluye los datos moleculares de mutación de IDH y codeleción de 1p/19q como características fundamentales. La hipótesis es que esta clasificación molecular de por sí tiene una implicación pronóstica, además de una mayor precisión para la clasificación de estos tumores y por tanto podría tener secundariamente repercusiones en las recomendaciones terapéuticas.

2) Determinar la implicación pronóstica de la vía de las ciclinas.

Por otra parte, se plantea la hipótesis de que, en los casos de oligodendrogliomas seleccionados por criterios moleculares, determinados elementos de esta vía de las ciclinas pueden definir el pronóstico de estos tumores.

2.2 OBJETIVOS

Los objetivos del estudio son los siguientes:

1. Seleccionar y describir una cohorte de pacientes con diagnóstico de oligodendroglioma y oligoastrocitoma (grado II y III), por criterios morfológicos según la clasificación de la OMS previa a 2016.
2. Reclasificar estos pacientes seleccionados inicialmente por criterios morfológicos siguiendo los criterios de la OMS de 2016.
3. Descripción de los parámetros clínicos de esta serie grande y de largo tiempo de evolución de oligodendrogliomas seleccionados ya estrictamente por criterios moleculares (resultante de la reclasificación de la cohorte previa diagnosticados por criterios morfológicos).
4. Identificar el impacto pronóstico tras la reclasificación por criterios moleculares de los oligodendrogliomas inicialmente clasificados morfológicamente, así como el valor de las distintas técnicas inmunohistoquímicas y moleculares utilizadas para esta reclasificación.
4. Identificar el impacto de los tratamientos recibidos (tipo de cirugía, quimio y radioterapia) en la cohorte seleccionada por criterios moleculares en oligodendrogliomas grado II y grado III.
5. Comparación de los datos entre la cohorte inicial y la cohorte reclasificada molecularmente

6. Identificar la expresión de diferentes elementos de la vía de las ciclinas en la cohorte seleccionada por criterios moleculares. Analizar el valor pronóstico de la expresión inmunohistoquímica de Rb, p16 y ciclina D1.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo es un estudio retrospectivo descriptivo, donde se ha revisado aspectos clínicos y moleculares de una cohorte de casos con diagnóstico de oligodendroglioma y oligoastrocitoma.

La cohorte inicial se ha reclasificado según los criterios moleculares actuales de oligodendroglioma de la OMS 2016, que requiere la presencia combinada de la mutación de IDH y la codeleción de 1p/19q.

3.1 SELECCIÓN DE PACIENTES

La selección inicial de casos se hizo identificando todos los pacientes diagnosticados de oligodendroglioma (grado II y grado III) y oligoastrocitoma (grado II y grado III) en los registros de anatomía patológica de los hospitales Universitario Ramón y Cajal y Hospital Universitario 12 de Octubre, entre septiembre de 1977 y octubre de 2014. En estos casos el diagnóstico se había realizado basado en criterios morfológicos (diagnóstico previo a la OMS de 2016). Se excluyeron pacientes con otros diagnósticos.

Posteriormente, solo se incluyeron los pacientes en los que no había bloque de tejido tumoral del diagnóstico inicial, se excluyeron los pacientes en los que solo se disponía de tejido de recurrencias o cirugías sucesivas (según los detalles referidos en el apartado Resultados)

Se han identificado 182 casos con diagnóstico de oligodendroglioma y oligoastrocitoma (grado II y grado III) sumando ambos hospitales. Se identificaron 68 casos en el hospital Universitario Ramon y Cajal y 114 en el hospital Universitario 12 de Octubre.

Se ha decidido no incluir pacientes con diagnóstico posterior a 2014, teniendo en cuenta que, dada la evolución de esta patología, sería necesario tener un periodo de seguimiento largo para determinar mejor la evolución de los casos incluidos.

Se ha realizado un seguimiento de los casos hasta el 1 de marzo de 2020.

El estudio fue autorizado por el comité ético del hospital Ramón y Cajal con fecha del día 13 de enero 2014. Se añade el modelo de consentimiento informado en el anexo 1.

A los pacientes vivos en el momento del seguimiento se les informó acerca de la naturaleza del estudio y se ofreció la posibilidad de participar en el presente estudio.

Los pacientes que estuvieron de acuerdo firmaron el consentimiento informado V1 del estudio.

3.2 VARIABLES A ESTUDIO.

Los datos clínicos de los casos proceden de la revisión de las historias clínicas de los pacientes. Se han realizado llamadas telefónicas a pacientes para resolver algunos datos concretos no recogidos en la historia clínica, sobre todo relacionados con la evolución a largo plazo de la enfermedad.

Se han recogido múltiples variables: diagnóstico histológico, grado, tipo histológico (oligodendroglioma o bien oligoastrocitoma), fecha de nacimiento, sexo, localización del tumor, situación de 1p/19q, presencia o no de necrosis, presencia o no de proliferación endotelial, presencia o no de realce en la RM al diagnóstico, fecha de la cirugía, extensión de la cirugía (en base a impresión del cirujano o de la RM postquirúrgica, dependiendo del dato disponible), administración o no de radioterapia tras la cirugía, administración de quimioterapia tras la cirugía, tipo de quimioterapia recibido, presencia o no de progresión tumoral, fecha de progresión, tipo de tratamiento en la primera recaída, presencia o no de segunda recaída, fecha de segunda recaída, tratamiento en la segunda recaída, fecha de progresión a segunda recaída, presencia o no de exitus, fecha de exitus o de última revisión.

Esta información se archivó en la base de datos de forma anónima.

3.3 RECLASIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR.

El diagnóstico de la cohorte inicial se había realizado por criterios morfológicos (previo a la introducción de los criterios de la OMS 2016).

Se han identificado 182 casos con criterios de oligodendroglioma o bien oligoastrocitoma (grado II y III), sumando ambos hospitales.

Posteriormente se ha hecho una reclasificación de estos casos para seleccionar solo aquellos que cumplían los criterios de oligodendroglioma de la OMS de 2016, que requiere tanto la presencia de mutación de IDH, como la codeleción de 1p/19q.

Para la reclasificación de la cohorte inicial según los criterios moleculares de la OMS 2016 se utilizaron los estudios inmunohistoquímicos y moleculares, que se detallan posteriormente, así como la secuencia y detalles de los diferentes estudios realizados.

3.4. ESTUDIOS REALIZADOS PARA LA RECLASIFICACIÓN MOLECULAR

- Detección de mutaciones de IDH1 e IDH2 mediante la técnica de “High Resolution Melting” (HRM)
- Estudio de 1p/19q por FISH
- Estudio Inmunohistoquímico de IDH1 (R132H) em tissue-arrays.
- Secuenciación por panel NGS

Para una caracterización molecular más completa se realizó también:

- Estudio de mutaciones del promotor de TERT mediante pirosecuenciación.
- Estudio inmnohistoquímico de ATRX en tissue-array

3.5 ESTUDIO DE LA VIA DE LAS CICLINAS

Para el estudio de la vía de las ciclinas se realizó estudio inmunohistoquímico en tissue arrays con los siguientes anticuerpos: p16, Ciclina D, Rb y CK6.

3.6. DESCRIPCION DE LOS PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS REALIZADOS

1. A continuación, se describen los procedimientos, técnicas IHQ y moleculares utilizadas:

1. Muestras tumorales
2. Extracción de DNA
3. High Resolution Melting (HRM)
4. FISH
5. Matriz de Tissue Array
6. Estudio Inmunohistoquímico
7. Panel NGS
8. Pirosecuenciación

1. Muestras tumorales

Todas las muestras del estudio estaban fijadas en formaldehído tamponado al 4% e incluidas en parafina.

En cada caso se seleccionaron los bloques representativos de parafina para realizar los estudios moleculares y las técnicas de inmunohistoquímica.

2. Extracción de DNA:

Una vez seleccionado el bloque para cada tumor, se obtuvieron de 5 a 10 secciones de 5 µm de espesor. En algunos casos que había poca representación de células tumorales se realizó la macrodissección del área de tejido con mayor densidad de células tumorales.

El ADN genómico se extrajo utilizando el kit de Genómica (Genómica S.A.U., Madrid, España) siguiendo las instrucciones del fabricante. El tejido se desparafinó con xileno y etanol. Posteriormente, las muestras se incubaron a 56°C con buffer de lisis y proteinasa K toda la noche. Al día siguiente se inactivó la digestión a 70°C durante 10 minutos y se purificaron con columnas mediante centrifugación. La concentración y pureza del ADN fueron determinadas mediante el espectrofotómetro NanoDrop™ ND-2000 UV-Vis

(ThermoFisher Scientific, Wilmington, DE, USA) y el fluorímetro Invitrogen™ Qubit™ 3 (ThermoFisher Scientific, Wilmington, DE, USA). Las muestras se conservaron a -20°C.

3. High Resolution Melting (HRM):

El screening inicial de mutaciones en IDH1 e IDH2 se realizó por técnica de High Resolution Melting (HRM) que permite el estudio y la comparación de curvas de fusión de las cadenas de ADN ^[97].

Esta técnica se inicia con una PCR que amplifica la secuencia de ADN de interés en un LightCycler 480 y a este proceso se añaden colorantes fluorescentes (SYBR Green) según las instrucciones del fabricante. Se lleva a cabo un incremento de la temperatura en etapas de 0,1°C desde 60°C a 95°C durante el cual se registra la fluorescencia para detectar la temperatura en que las secuencias amplificadas se disocian en cadenas simples. Con estos datos se realiza una curva de fluorescencia y temperatura. Esta técnica permite detectar cambios en una sola base del DNA, ya que las diferentes secuencias genéticas van a presentar diferencias en las temperaturas de disociación respecto al DNA control.

4. FISH (Hibridación Fluorescente In Situ)

El estudio de codelección de 1p/19q por FISH se realizó partiendo del tejido en parafina, en su mayoría en los tissue-arrays y algunos casos con poca densidad celular tumoral o casos dudosos, se utilizaron bloques individuales de parafina. Se cortaron secciones de 5µm y se mantuvieron en estufa a 65° durante al menos durante 12 horas. Tras la desparafinización y rehidratación, el pretratamiento se realizó utilizando el “Tissue Digestion Kit I” suministrado por Leica Biosystems. La hibridación se realizó aplicando 10 µl de las sondas de color dual LSI 1p36/1q25 y LSI 19q13/19q13 (Vysis, Downers Grove, IL USA). La hibridación se realizó durante toda la noche a 37°.

La lectura del FISH se realizó en un microscopio de fluorescencia, para cada caso se analizaron aproximadamente unos 200 núcleos (media 194 células; rango 106-236). Se consideró pérdida presencia de delección 1p o 19q cuando se identificó un desbalance 1p/1q (1 vs 2 señales) o 19p/19q (2 vs 1 señal), respectivamente, en más del 25% de las células tumorales.

5. Tissue Arrays

Para el estudio IHQ y de FISH se realizaron matrices de tejido (“Tissue Arrays”), que contienen muestras de 1,5 mm de diámetro por duplicado de cada caso, extraídas a partir del bloque de parafina. Para construir la matriz se seleccionaron áreas representativas del tumor. Para el proceso de construcción de esta matriz de tejido se utilizó un dispositivo específico (“tissue-arrayer”), que punciona el tejido marcado, obteniendo un cilindro que se introduce en nuevo bloque de parafina que contiene cilindros de 1,5mm de diámetro de numerosas muestras.

Este sistema de tissue array permite estudios múltiples casos en las mismas condiciones de experimentación además de analizar diferentes estudios Inmunohistoquímicos y de FISH en el mismo área del tumor. Por otra parte, abarata costes y conserva mayor cantidad de tejido tumoral. Todas las muestras ordenadas se tiñeron con H&E para confirmar la presencia de tejido tumoral.

Solo se utilizaron bloques procedentes de tejido correspondiente al diagnóstico inicial para el tissue-array. Los pacientes en los que no había bloque de parafina del diagnóstico inicial se excluyeron del tissue-array, en estos casos no se utilizó el tejido de recurrencias o cirugías sucesivas.

6. Estudio Inmunohistoquímico

El estudio inmunohistoquímico se realizó utilizando un procesador de tinción automatizado Leica Bond (Leica Biosystems). Se cortaron secciones de tejido de los tissue-arrays a 5µm y se secaron a 70°C durante 30 min. A continuación, la desparafinación y la recuperación antigénica se realizó en el sistema Bond III con solución de recuperación 1 (pH6) y 2 (pH 9). Las secciones se incubaron con los anticuerpos primarios descritos en la tabla de anticuerpos descrita a continuación, usando el protocolo estándar Leica Bond IHC-F. El kit de detección Leica Bond Polymer Refine DAB se utilizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Tabla de anticuerpos:

Anticuerpo	Clon	Dilución	Casa Comercial	Desenmascaramiento
IDH	H09	1/200	DIANOVA	pH9
ATRX	Policlonal	1/300	SIGMA	pH9
Rb	13A10	1/30	NOVOCASTRA	pH9
P16	EGH4	Predefinida	ROCHE	pH9
Ciclina A	6E6	1/100	NOVOCASTRA	pH9
Cdk6	Monoclonal	1/50	ABCAM	Ph6

7. Panel de secuenciación de NGS (Next Generation Sequencing).

En determinados casos donde las técnicas previas no permitieron llegar al diagnóstico o no había congruencia entre los datos moleculares, se realizó secuenciación mediante panel de NGS (Next Generation Sequencing)^{[98][99]}.

Este panel de NGS incluye 14 genes frecuentemente mutados en gliomas en los que se estudian “hotspots”, exones - o secuencias codificantes completas y 55 SNPs que se encuentran situados a lo largo de los cromosomas 1 y 19 (para el estudio de la codeleción de 1p19q).

Los 14 genes incluidos en el panel son los siguientes:

H3F3, ACVR1, IDH1, PDGFRA, TERT, HIST1H3B, HIST1H3, EGFR, BRAF, CDKN2A, PTEN, IDH2, TP53 y ATRX.

Para la reclasificación y estudio molecular de nuestra serie, los análisis se centraron en el estudio de las alteraciones detectadas en IDH1, IDH2, TERT, ATRX y la codeleción de 1p19q.

Las librerías se realizaron utilizando el kit de librería Ion AmpliSeq v2.0 con 10 ng de ADN procedente del tejido tumoral fijado en formol e incluido en parafina. Las librerías se multiplexaron y se sometieron a PCR de emulsión en

el sistema Ion Chef (Thermo Fisher). Finalmente se secuenciaron utilizando el secuenciador S5XL (Thermo Fisher).

La profundidad media de lectura fue de 2240x y la longitud media de lectura fue de 116 pares de bases.

Para el análisis computacional de datos de secuenciación de NGS, las secuencias se alinearon con el genoma de referencia hg19 y la “llamada de variantes” se realizó utilizando el Programa Torrent Suite v.5.6 de Thermo Fisher.

Se excluyeron las variantes con menos de 100 lecturas totales, con menos de 30 lecturas del alelo mutado, con una frecuencia alélica inferior a 5%, las localizadas en regiones intrónicas y de splicing, las sinónimas y las presentes en la población con una frecuencia alélica superior al 1% según el proyecto 1000 Genomes. Todas las variantes restantes se visualizaron utilizando Integrative Genomic Viewer (IGV; Broad Institute) y se revisaron manualmente en las bases de datos COSMIC y ExAc, así como en la literatura científica para excluir polimorfismos o variantes no patogénicas.

Para detectar la pérdida de heterocigosidad (LOH) 1p / 19q, se anotaron las frecuencias alélicas para cada SNP con más de 250 lecturas. En función de los rangos establecidos para clasificar homocigotos y heterocigotos en función de las frecuencias alélicas detectadas en muestras normales con respecto al genoma de referencia, los desequilibrios de los marcadores 1p y 19q debidos a LOH se puntuaron cuando sus frecuencias alélicas estaban fuera de los rangos establecidos de homocigosidad o heterocigosidad control. Definimos el criterio para la codelección 1p / 19q como la ausencia de marcadores heterocigotos en estos brazos cromosómicos, junto con la presencia de al menos un marcador heterocigoto en el brazo opuesto. La no codelección de 1p/19q se definió con al menos un marcador heterocigoto en 1p o 19q ^[98].

8. Pirosecuenciación

La pirosecuenciación fue una de las técnicas empleadas para estudiar la presencia de mutaciones del promotor de TERT. Las mutaciones más frecuentes del promotor de TERT son la C228T y C250T, que se encuentran a -124 y -146 pb del inicio de la traducción, respectivamente. Se utilizaron los

siguientes cebadores para amplificar un fragmento de 110 pb que contenía las posiciones de las mutaciones mencionadas: 5'-CCCTTCACCTTCCAGCTCC-3' (forward) y 5'-AAAGGAAGGGGAGGGGCTG-3' (reverse, 5' biotinilado). La PCR se llevó a cabo utilizando el termociclador Applied Biosystems™ Veriti™ 96-Well Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific) con una desnaturalización inicial a 95°C durante 15 minutos, seguido de 45 ciclos de desnaturalización a 95°C durante 30 segundos, hibridación a 60°C durante 30 segundos, extensión a 72°C durante 30 segundos y una extensión final a 72°C durante 10 minutos. El cebador para la pirosecuenciación (5'-ACCCCGCCCCGTCCCGACCCC-3') fue diseñado desde la mutación C250T, a -146 pb del inicio de la traducción, en dirección 3' de modo que se pudieran analizar las dos posibles mutaciones en el mismo ensayo. La pirosecuenciación se llevó a cabo en el pirosecuenciador PyroMark Q24 (Qiagen) utilizando el reactivo PyroMark Gold Q24 (Qiagen) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Se añadió Q-solution para mejorar el rendimiento de la amplificación. Los resultados fueron analizados con el software PyroMark Q24 2.0.6 Build 20 (Qiagen).

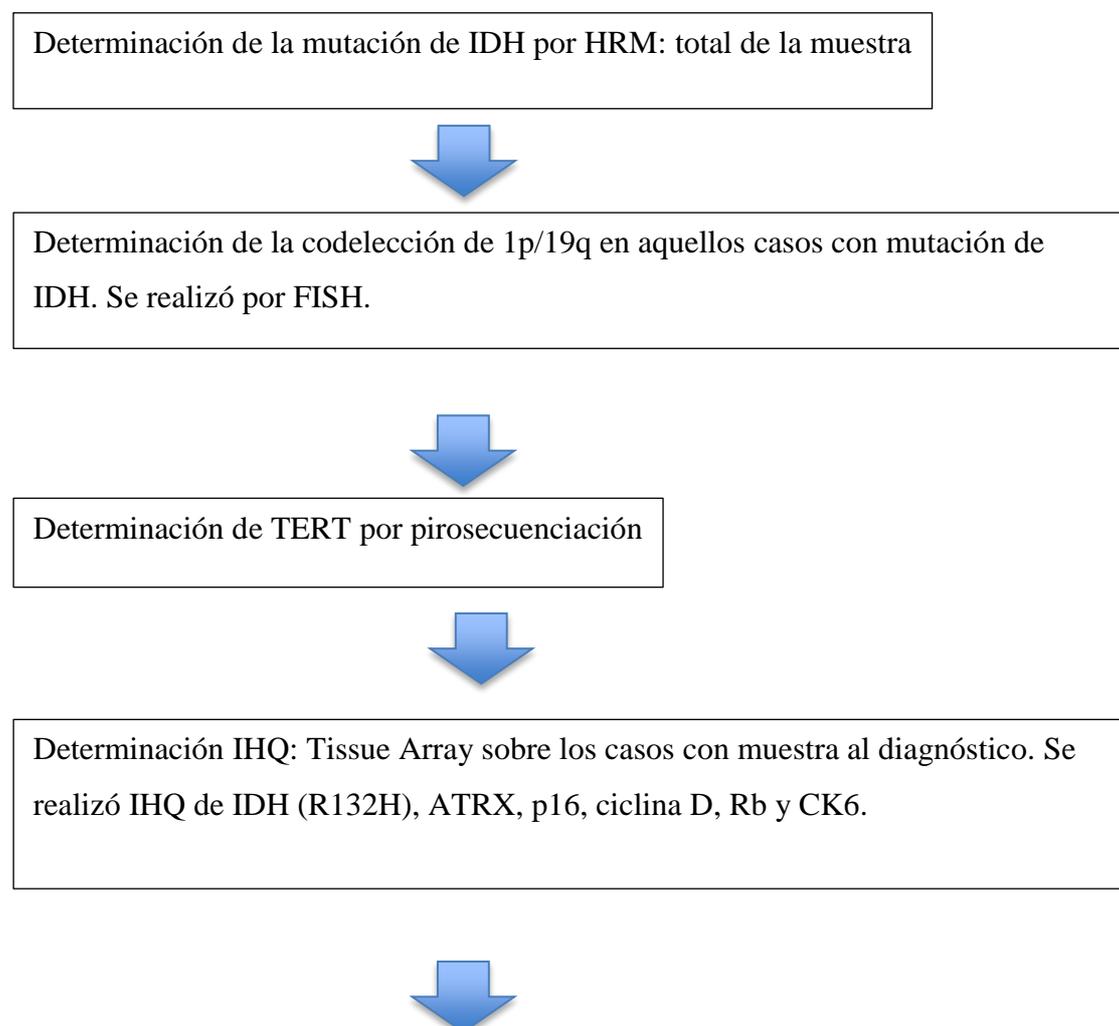
3.7. CUANTIFICACIÓN DE RESULTADOS

- ATRX se clasificó en positivo o negativo según los resultados de presencia o ausencia de expresión inmunohistoquímica. Para la evaluación inmunohistoquímica de ATRX, se consideró tinción negativa sólo en aquellos casos en los que una pérdida de tinción nuclear se limitó a las células tumorales y existía un control positivo interno apropiado en las células no tumorales adyacentes.
- Rb se clasificó como positivo o negativo. La inmunorreactividad de Rb se consideró positiva cuando más del 50% de los núcleos de las células tumorales presentaban una intensa tinción positiva.
- P16 se clasificó en 6 grupos: No expresión inmunohistoquímica, expresión <10% en los núcleos de las células tumorales, expresión <25%, expresión entre 25-50%, expresión entre 50-75% y expresión entre 75-100%.

- Ciclina D1 se clasificó en 6 grupos: No expresión inmunohistoquímica, expresión <10% de los núcleos de las células tumorales, expresión <25%, expresión entre 25-50%, expresión entre 50-75% y expresión entre 75-100%.
- CDK6: no se observó expresión en ninguno de los casos analizados. Ante los resultados negativos y la discrepancia respecto a los datos previos en la literatura, se consideró un problema técnico y por ello se desestimó su análisis.

3.8. SECUENCIA DE LAS PRUEBAS REALIZADAS PARA EL PROCESO DE RECLASIFICACIÓN

Para aplicar los criterios de la OMS 2016 en esta serie de casos, hemos empezado por determinar la mutación de IDH (primero por HRM- High Resolution Mlenting), IHQ de IDH1-R132H y secuenciación en los casos que había duda, y después se ha realizado la determinación de 1p/19q por FISH en aquellos casos que o no estaba realizado o se creía necesario confirmar los datos disponibles.



Estudio NGS sobre casos dudosos (42 casos)

Para el proceso de reclasificación se realizó:

- En la primera fase para la reclasificación se realizó estudio masivo de toda la serie mediante HRM para ver si existía mutación de IDH, con el fin de excluir los casos que no tuviesen mutación, ya que la nueva clasificación de la OMS 2016 exige mutación para el diagnóstico de oligodendroglioma.
Este primer filtro se realizó mediante la técnica de HRM (High Resolution Mlenting), con alta correlación para mutación tanto de IDH1 como IDH2.
Esta técnica se realizó en primer lugar porque permite hacer muchos casos a la vez y así se identificaron los casos no mutados para ser excluidos.
En esta fase se eliminaron los que no tenían mutación de IDH.
De forma complementaria, también se realizó determinación de IDH por inmunohistoquímica (IHQ), en los tissue arrays (que sólo detecta la mutación R132H de IDH1).
- En la segunda fase se realizó la codelección de 1p/19q por FISH. Se realizó en aquellos casos que no se había determinado previamente en el momento del diagnóstico, con finalidad clínica, también en los casos con delección parcial y en los casos que planteaban dudas por no presentar congruencia el resto de los datos moleculares.
En esta fase se eliminaron los que no tenían codelección de 1p/19q.
- Se realizó la determinación de la mutación de TERT por pirosecuenciación a todos los que presentaron mutación de IDH
- En una cuarta fase se realizó un tissue-array para el estudio IHQ de IDH, ATRX y estudio de la vía de las ciclinas (p16, ciclina D1, pRB, CK6).
En este tissue array no se incluyeron los pacientes en los que sólo se disponía de tejido de segunda o sucesivas cirugías.

- En los casos donde existían problemas técnicos con los estudios previos (HRM para IDH y el FISH para 1p/19q), y en algunos casos en los que existían datos moleculares discordantes, se realizó estudio de secuenciación mediante panel NGS de 12 genes implicados en gliomas que incluía también la codeleción de 1p/19q.
Todos los resultados de estos datos los analizamos con detalle en el apartado de resultados (4.3.2).

3.9. ANALISIS ESTADISTICO

Para el análisis de datos se realizó una base de datos a través del programa Microsoft® Excel para Mac Versión 16.45. En esta base de datos se han introducido los datos de las variables recogidas y descritas previamente.

El análisis estadístico se realizó con el programa informático IBM® SPSS Versión 23.

En el análisis de datos se han realizado los siguientes procedimientos:

- Distribución de frecuencias de las diferentes variables
- Estudio de asociación de variables cualitativas dicotómicas mediante el test de Chi-Cuadrado, se consideró valor de probabilidad $p > 0.005$ como significativo.
- Estudio de supervivencia: se realizaron los análisis estadísticos mediante las curvas de Kaplan-Meier. Para el cálculo de supervivencia se consideró la fecha de diagnóstico como la fecha de la cirugía y la fecha de final de seguimiento fue la fecha de fallecimiento del paciente en los casos en que se había producido), o bien la fecha de última visita.
- El análisis univariante de supervivencia se calculó realizándose las comparaciones entre los distintos grupos mediante el test de Log-Rank. Se consideró significativo con probabilidad $p < 0.005$.
- El análisis multivariante de la supervivencia se calculó mediante el modelo de regresión proporcional del riesgo (Cox proportional hazard models). Se aceptó el valor de probabilidad $p < 0.005$ como significativo.

4. RESULTADOS

- 4.1 Datos clínicos de la cohorte inicial.**
- 4.2 Datos clínicos de la cohorte tras aplicar los criterios moleculares de la OMS 2016. Cohorte reclasificada:**
 - 4.2.1 Características clínicas de la cohorte global por criterios de la OMS 2016.**
 - 4.2.2 Primera progresión: características, tratamiento y evolución.**
 - 4.2.3 Comparación de datos de la cohorte inicial y la cohorte reclasificada.**
 - 4.2.4 Reclasificación de los tumores considerados como oligoastrocitomas en la clasificación anterior a 2016.**
 - 4.2.5 Resultados de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado II en la cohorte reclasificada.**
 - 4.2.5.1 Oligodendrogliomas de grado II: evolución según el tratamiento quirúrgico.**
 - 4.2.5.2 Oligodendrogliomas de grado II: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia libre de progresión.**
 - 4.2.5.3 Oligodendrogliomas de grado II: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia global.**
 - 4.2.6 Resultados de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado III en la cohorte reclasificada.**
 - 4.2.6.1 Oligodendrogliomas de grado III: evolución según el tratamiento quirúrgico.**
 - 4.2.6.2 Oligodendrogliomas de grado III: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia libre de progresión.**
 - 4.2.6.3 Oligodendrogliomas de grado III: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia global.**

- 4.3 Datos moleculares de la cohorte tras aplicar los criterios de la OMS 2016. Cohorte reclasificada:**
 - 4.3.1 Proceso de reclasificación según criterios de la OMS 2016.**
 - 4.3.2 Datos moleculares de la cohorte reclasificada.**
 - 4.3.3 Análisis de la vía de las ciclinas en la cohorte reclasificada.**
 - 4.3.3.1 Expresión de p16 por IHQ. Expresión de p16 en el total de la muestra.**
 - 4.3.3.2 Expresión de p16 en los oligodendrogliomas grado II.**
 - 4.3.3.3 Expresión de p16 en oligodendrogliomas grado III.**
 - 4.3.3.4 Analisis multivariante y ausencia de expresión de p16.**
 - 4.3.3.5 Sobreexpresión de p16.**
 - 4.3.3.6 Expresión de p16 y proliferación microvascular, necrosis y captación de contraste en la RM.**
 - 4.3.3.7 Expresión de ciclina D1.**
 - 4.3.3.8 Expresión de ciclina D1 y su impacto pronóstico.**
 - 4.3.3.9 Expresión de Rb.**

4.1. Datos clínicos de la cohorte inicial.

A partir de este momento en el texto, vamos a utilizar el término de cohorte inicial para referirnos a la serie de casos seleccionados por criterios morfológicos y con el término de cohorte reclasificada haremos referencia a la serie de casos obtenido tras aplicar los criterios de la OMS de 2016 (con determinación de mutación de IDH y codeleción de 1p/19q).

Hemos denominado cohorte excluida a aquella que no cumplió criterios de la OMS 2016.

Por lo tanto, la cohorte inicial incluía los casos de la cohorte reclasificada más la cohorte excluida.

4.1. DATOS CLÍNICOS DE LA COHORTE INICIAL

La muestra inicial se ha generado a partir de los casos identificados en el registro de Anatomía Patológica, tanto del hospital Universitario Ramón y Cajal como del hospital 12 de Octubre, ambos hospitales terciarios localizados en Madrid.

Se han utilizado los criterios de búsqueda: oligodendroglioma, oligodendroglioma anaplásico, oligoastrocitoma y oligoastrocitoma anaplásico.

Con estos criterios, hemos recogido un total de 182 casos, diagnosticados entre el 15 de septiembre de 1977 y el 29 de octubre de 2014.

Estas fueron las características de esta cohorte de 182 casos seleccionados en base a los criterios morfológicos (previamente a la reclasificación):

- Hemos identificado 119 casos (65.4%) de grado II y 63 casos (34.6%) de grado III.
- Hemos encontrado 142 casos considerados como oligodendrogliomas (78%) y 40 casos de oligoastrocitomas (22%)
- En cuanto a la distribución de sexos, se han identificado 70 mujeres (38,5%) y 112 hombres (61,5%).
- En cuanto a la edad, la media de edad al diagnóstico fue de 44.8 años (14-75).
- Por localización, 109 casos se han localizado en el lóbulo frontal (59.9%), 27 casos en el lóbulo temporal (14,8%), 14 casos estaban en el lóbulo parietal, y 1 caso en el lóbulo occipital (0.5%) y 31 casos en otras localizaciones (17%).
- En 93 casos (51%), se había realizado la determinación de la codeleción de 1p/19q con carácter asistencial, y se conocía la situación de la deleción previo a la inclusión en este estudio. De ellos, en 17 casos no se había encontrado deleción (9.3%), en 68 casos había deleción de 1p y 19q (36.8%), en 1 caso de detectó pérdida de 19q (0.5%), en 7 casos había pérdida de 1p (3.8%) y en 89 casos se desconocía (48.9%).
- En relación con el tratamiento quirúrgico, en 13 casos se ha realizado sólo biopsia (7.1%), en 36 casos resección parcial (19.8%), en 40 casos resección subtotal (22%), en 85 casos resección completa (46.7%). En 8 casos no se

pudo conocer la extensión de la cirugía en base a los datos recogidos en la historia clínica.

- Tras la cirugía, mitad de los pacientes han recibido radioterapia y 58 pacientes recibieron quimioterapia (31.9%). No recibieron ningún tipo de tratamiento adyuvante en un 36% de los casos.
- Del total de pacientes, 111 han presentado progresión de la enfermedad tras la cirugía (61%) y 66 no han progresado (36.3%) tras una mediana de tiempo de seguimiento de 5.67 años (mínimo 0.64-máximo 24.39).
- Del total de pacientes revisados, 95 seguían vivos (52%) y 85 han fallecido (46.7%), tras una mediana de seguimiento de 5.67 años.
- La mediana de supervivencia global para toda la cohorte inicial (sin ningún tipo de selección), ha sido de 11.97 años (IC95% 9.76-14.26).
- La mediana de supervivencia libre de progresión para la cohorte inicial ha sido de 5.69 años (IC95% 4.81-6.57).
- En relación con los factores pronósticos: la localización frontal ha resultado ser un factor pronóstico favorable, con mediana de supervivencia de 12.73 años vs a 9 años en localización temporal ($p=0.036$). La extensión de la cirugía no resultó ser un factor pronóstico.

En cuanto a los oligodendrogliomas grado II:

- Se han identificado 119 casos.
- La mediana de edad fue de 44.1 años (14.75-75.24).
- Del total de casos, 76 han sido hombres (63.9%) y 43 mujeres (36%).
- En cuanto a la localización, estaban en el lóbulo frontal el 63% de los casos y temporal el 14.3%.
- En cuanto a la extensión de la cirugía, el 46.2% de los casos ha sido una resección completa, 39,5% la resección fue subtotal o parcial y un 9% solo biopsia.
- Tras la cirugía, se ha administrado radioterapia en un 41.2% de los casos.
- Tras la cirugía han recibido quimioterapia un 22% de los casos.
- Tras la cirugía han recibido tratamiento de quimio y radioterapia 9.2% de los casos.
- La mediana de supervivencia global ha sido de 13.06 años (10.49-15.63).

- La mediana de supervivencia libre de progresión ha sido de 5.95 años (5.063-6.85).
- Tras la progresión, la mediana de supervivencia ha sido de 3.66 años (1.18-5.51).

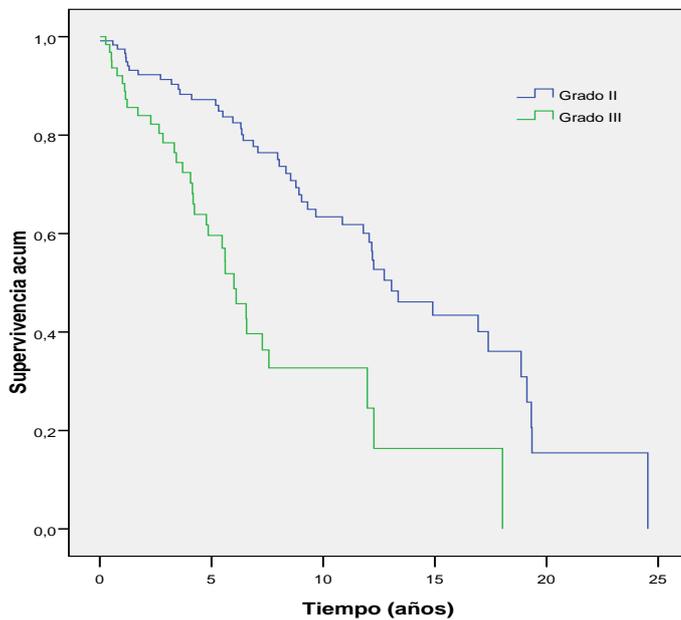
En cuanto a los oligodendrogliomas grado III:

- Se han identificado 63 casos.
- La mediana de edad fue de 46.29 años (21.34-72.89).
- Del total de casos, 36 eran hombres (57.1%) y 27 eran mujeres (42.9%).
- En cuanto a la localización, estaban en el lóbulo frontal el 54% de los casos y temporal en un 15.9% de los casos.
- La extensión de la cirugía ha sido completa en el 47.6% de los casos, subtotal o parcial en un 46% y biopsia sola en un 3.2%.
- Tras la cirugía, un 66.7% han recibido radioterapia.
- Tras la cirugía, un 50.8% han recibido quimioterapia.
- Tras la cirugía, 33% han recibido ambos tratamientos radioterapia y quimioterapia.
- La mediana de supervivencia global ha sido de 6 años (4.9-7.095).
- La mediana de supervivencia libre de progresión ha sido de 4.01 años (2.57-5.45).

Se ha encontrado una diferencia estadísticamente significativa en supervivencia global entre los tumores de grado II y grado III:

La mediana de supervivencia global para los oligodendrogliomas de grado II fue de 13.06 años (10.49-15.63) y para los oligodendrogliomas grado III de 6 años (4.9-7.095). $p=0.00$

Supervivencia global según el grado en la cohorte inicial

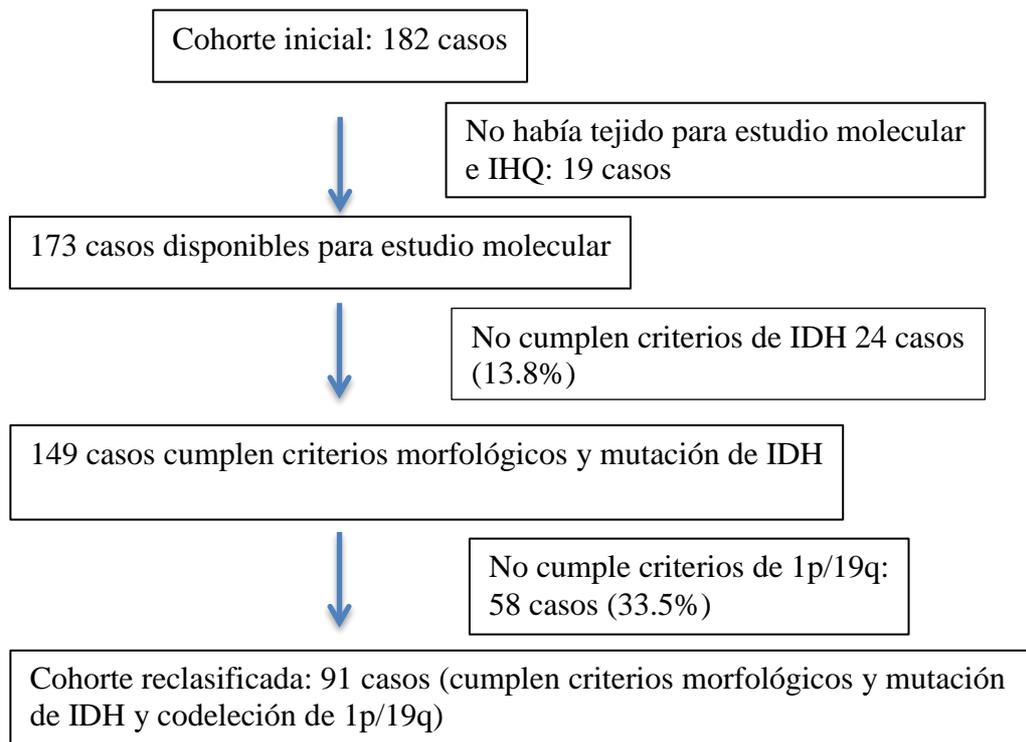


No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia global entre los diagnosticados de oligodendroglioma y de oligoastrocitoma. La mediana de supervivencia global para los oligodendrogliomas fue de 11.79 (IC95% 8.74-14.84), y para los oligoastrocitomas de 12.2 años (IC95% 7.86- 16.54) $p=0.560$.

Por tanto, primero hemos procedido a la identificación de la muestra descrita, denominada cohorte inicial, cuyo diagnóstico se había basado solo en criterios morfológicos, según los criterios de la OMS previo a 2016.

Posteriormente, hemos hecho una reclasificación de estos casos para seleccionar solo aquellos que cumplieran los criterios de la OMS de 2016. Se realizó para ello un estudio molecular para detectar la presencia combinada de mutación en IDH y presencia de codeleción de 1p/19q. A esta cohorte se le ha dado la denominación de cohorte reclasificada.

El proceso detallado de reclasificación molecular se expondrá en un apartado posterior, a continuación, se expone un esquema resumen:



4.2 Datos clínicos de la cohorte tras aplicar los criterios moleculares de la OMS 2016. Cohorte reclasificada.

De los 182 casos iniciales, hemos encontrado un total de 91 casos que cumplían los criterios de IDH mutado y 1p/19q codeleción. Estos casos los hemos denominado como cohorte reclasificada.

Habían sido diagnosticados, como hemos dicho, entre el 15 de septiembre de 1977 y el 29 de octubre 2014 y se les hizo un seguimiento hasta marzo 2020.

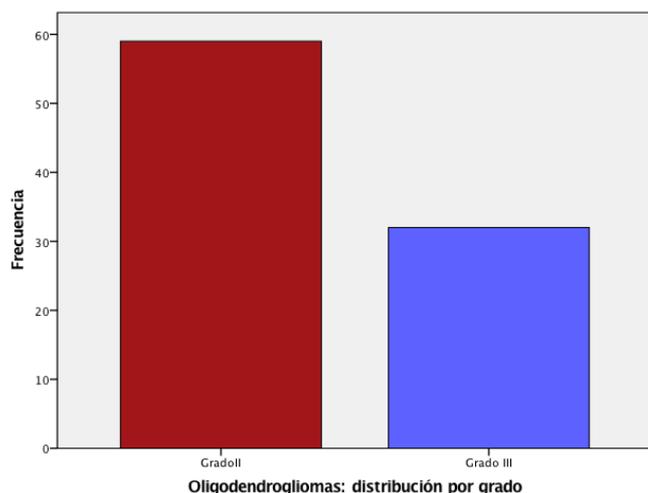
Por hospitales, cumplieron estos criterios 41 casos (45.1%) del Hospital Universitario Ramón y Cajal y 50 casos (54.9%) del hospital Universitario 12 de octubre.

Por tanto, tras aplicar los criterios de la OMS de 2016, hemos obtenido una muestra de 91 casos.

La mediana de seguimiento para toda la cohorte fue de 8.75 años.

4.2.1. Características clínicas epidemiológicas de la cohorte por criterios de la OMS 2016 (cohorte reclasificada)

De los 91 casos, cumplían criterios histológicos de grado II en 59 casos (64.8%) y de oligodendroglioma grado III en 32 casos (35.2%).



De los casos incluidos 79 casos eran oligodendrogliomas (87%) y 12 casos eran oligoastrocitoma (13%).

De los pacientes incluidos había 31 mujeres (34.1%) y 60 hombres (65.9%).

La media de **edad** de los pacientes incluidos fue de 44.67 años (22.6-75.2 años).

La **localización** fue en el lóbulo frontal en un 69% de los casos, temporal en un 12%, parietal un 6.6%, occipital en 1 caso y otros 11%.

La **extensión de la resección quirúrgica** fue:

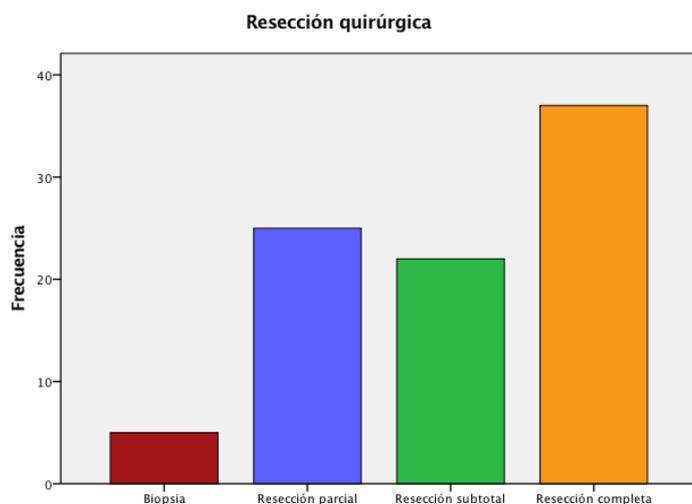
Biopsia sola en 5 casos (5.5%)

Resección parcial 25 casos (27.5%)

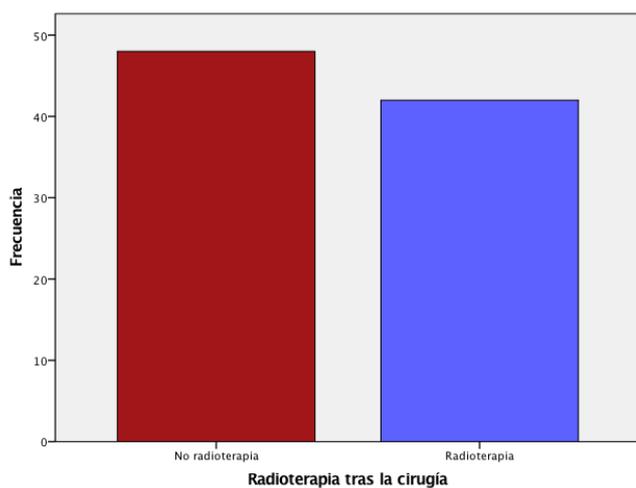
Resección subtotal 22 casos (24.7%)

Resección total 36 casos (39.1%)

No había datos disponibles en la historia clínica en 3 casos.



Recibieron radioterapia tras la cirugía 42 pacientes (46.2%). En un caso no había información en este sentido.

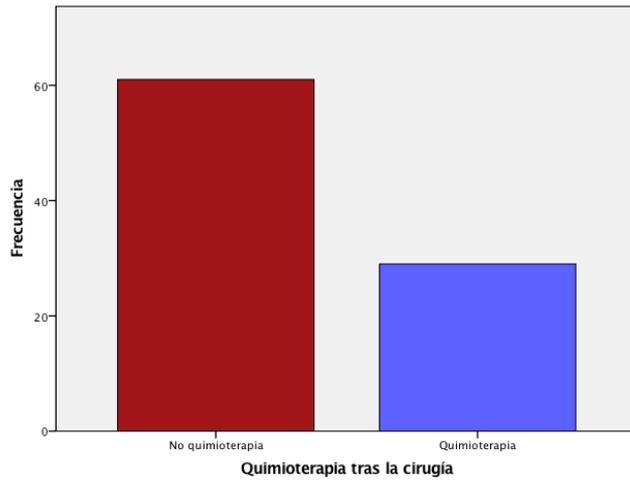


Recibieron Quimioterapia adyuvante:

No recibieron QT adyuvante en 61 casos (67%)

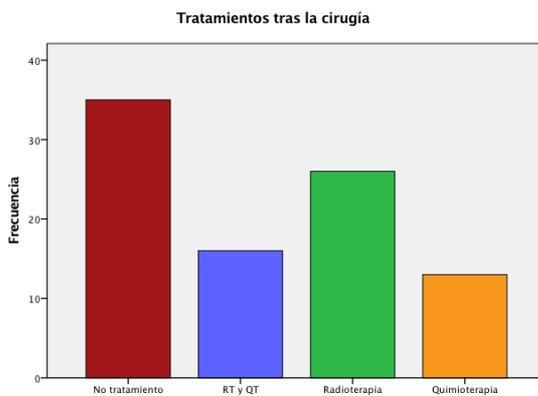
Si recibieron QT adyuvante en 29 casos (31.9%)

En un caso no había información en este sentido



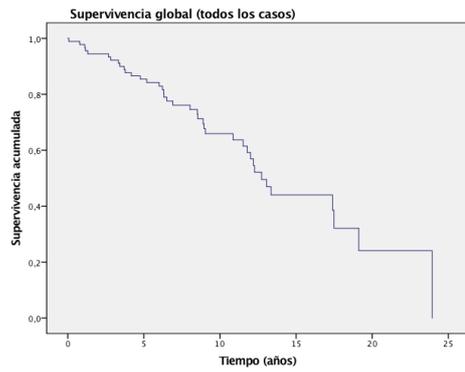
Tratamientos recibidos tras la cirugía:

- No han recibido ningún tipo de tratamiento adyuvante: 38.5%
- Han recibido radioterapia y quimioterapia: 17.6%
- Han recibido radioterapia sola: 28.6%
- Han recibido quimioterapia sola: 14.3%

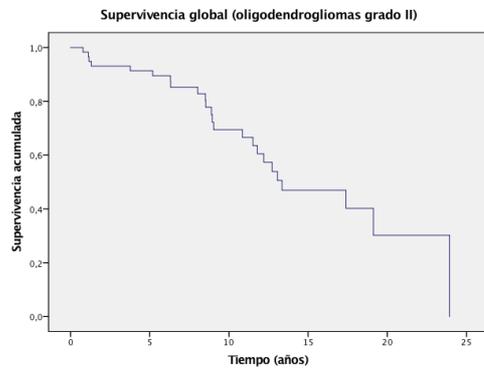


Datos de supervivencia:

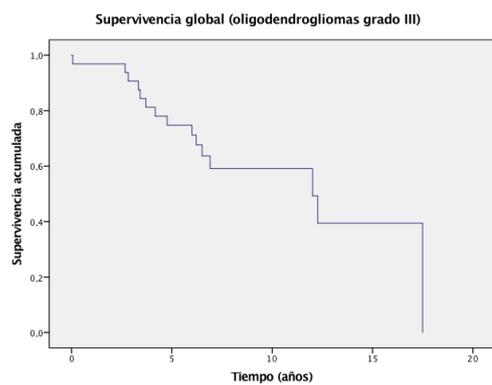
La **mediana de supervivencia global** de toda la serie fue de 12.7 (IC95% 11.3-14.1)



En los oligodendrogliomas grado II la mediana de SG fue de 13.3 años (IC 95% 8.2-18.4)



En los oligodendrogliomas grado III la mediana de SG fue de 12 años (IC 95% 5.6-18.3)

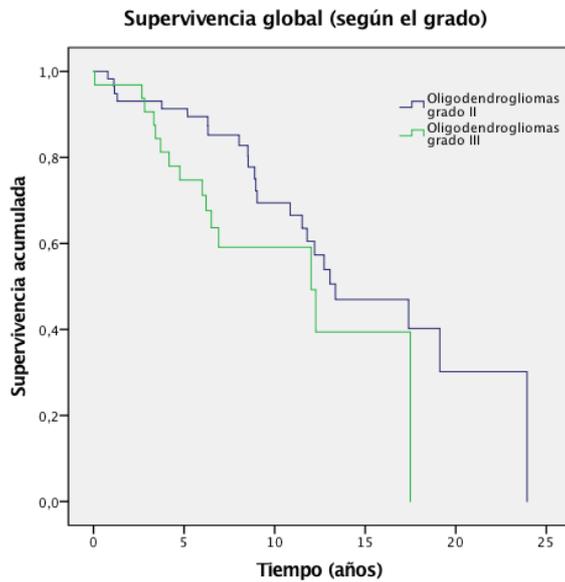


Al analizar de forma comparativa la SG entre los casos con oligodendroglioma grado II y grado III no se observan diferencias estadísticamente significativas

- Mediana de supervivencia global para oligodendrogliomas de grado II de

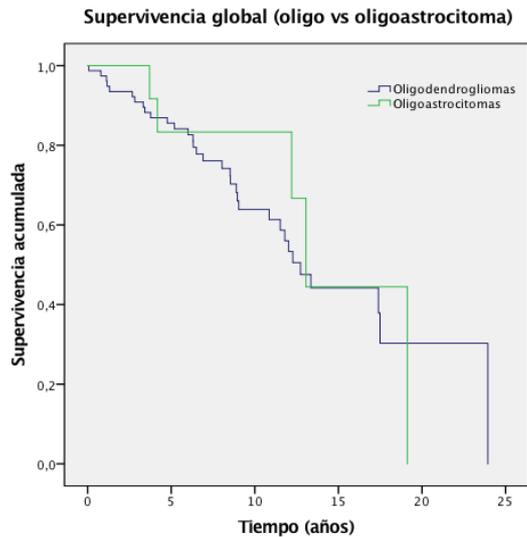
13.35 años (IC95% 8.27-18.44)

- Mediana de supervivencia global para oligodendrogliomas de grado III de 12.01 años (IC95% 5.66-18.35 años)
- P=0.089



Se ha analizado de forma comparativa la diferencia entre los que tenían diagnóstico de oligodendroglioma y aquellos con oligoastrocitoma, no se observaron diferencias estadísticamente significativas:

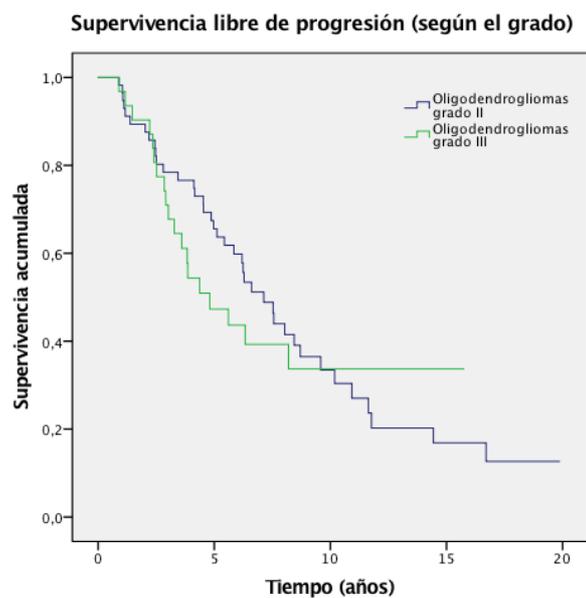
- La mediana de supervivencia global para los oligodendrogliomas fue de 12.73 años (IC95% 10.8-14.65)
- La mediana de supervivencia global para los diagnosticados inicialmente de oligoastrocitoma fue de 13.06 (IC 11.43-14.68)
- P=0.699



En cuanto a la supervivencia libre de progresión, para el global de la serie fue de 6.28 años (IC95% 4.67-7.89).

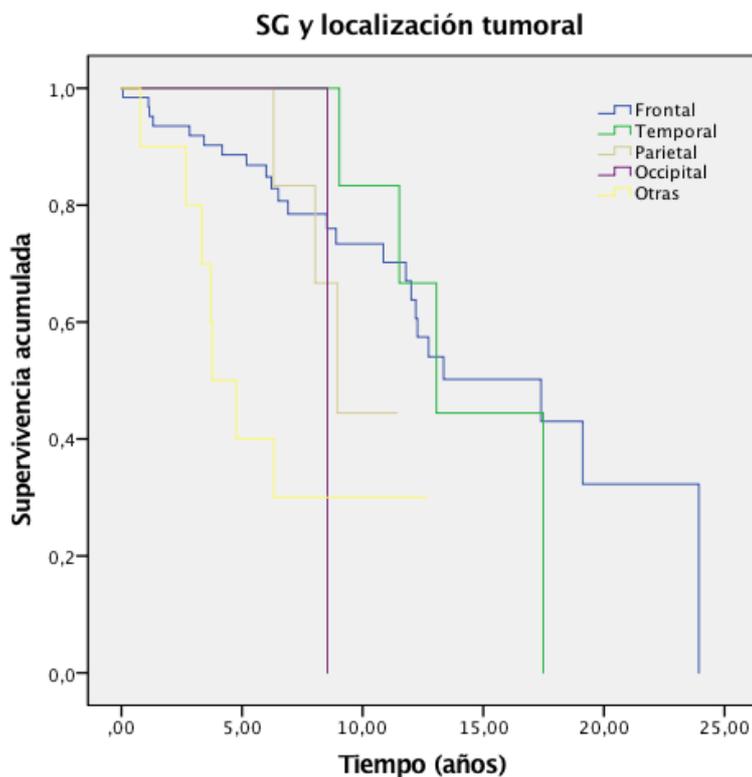
La SLP en función del grado tumoral: no se objetivaron diferencias estadísticamente significativas:

- La mediana de supervivencia libre de progresión para los oligodendrogliomas grado II fue de 7.13 años (IC95% 5.58-8.68)
- La mediana de supervivencia libre de progresión para los oligodendrogliomas de grado III fue de 4.8 años (IC95% 2.55-7.06)
- P=0.632



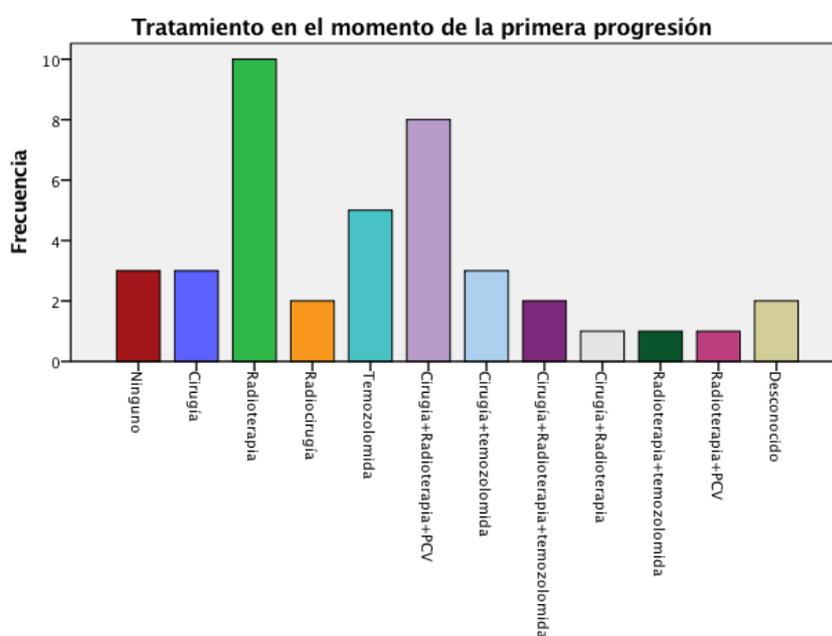
Hemos analizado la localización del tumor y si impacto en la SG y se ha observado que la localización en el lóbulo frontal se asocia a una mayor supervivencia:

- La mediana de supervivencia para los localizados en el lóbulo frontal ha sido de 17.39 años (IC95% 10.53-24-25).
- La mediana de SG para los localizados en el lóbulo temporal ha sido de 13.06 (IC95% 10.04-16.07).
- La mediana de SG para los localizados en el lóbulo parietal ha sido de 8.59 (IC95% 7.14-10.75).
- La mediana de supervivencia para los localizados en el lóbulo occipital ha sido de 8.424 años.
- La mediana de SG para otras localizaciones ha sido de 3.77 años (IC95% 2.12-5.42)
- P=0.005



4.2.2. Primera progresión: características, tratamiento y evolución.

- Hemos analizado el tratamiento que recibieron los pacientes en el momento de la primera progresión:
 - a. Ninguno 8.8%
 - b. Solo cirugía 7.7%
 - c. Solo radioterapia 12.1%
 - d. Solo radiocirugía 3.3%
 - e. Solo quimioterapia (temozolomida): 7.7%
 - f. Cirugía seguido de radioterapia y PCV: 9.9%
 - g. Cirugía+temozolomida: 4.4%
 - h. Cirugía+Radioterpia+Temozolomida: 2.2%
 - i. Cirugía+Radioterapia: 4.4%
 - j. Radioterapia+temozolomida: 1.1%
 - k. Radioterapia+PCV: 2.2%
 - l. Desconocido: 2.2%



En cuanto a la supervivencia:

- La mediana de supervivencia tras la primera progresión para el total de la cohorte tras la reclasificación ha sido de 6.041 años (IC95%3.49-8.59)
- La mediana de supervivencia para los tumores de grado II tras la recaída ha sido de 7.16 años (IC95%4.79-9.54)
- La mediana de supervivencia tras la recaída para los oligodendrogliomas de grado III ha sido de 3.62 años (IC95%1.66-5.59)
- Se realizó un análisis para determinar las diferencias en la evolución entre los oligodendrogliomas de grado II y de grado III. Las diferencias no alcanzaron la significación estadística, $p=0.383$.

Por otra parte, se ha analizado la evolución en progresiones posteriores:

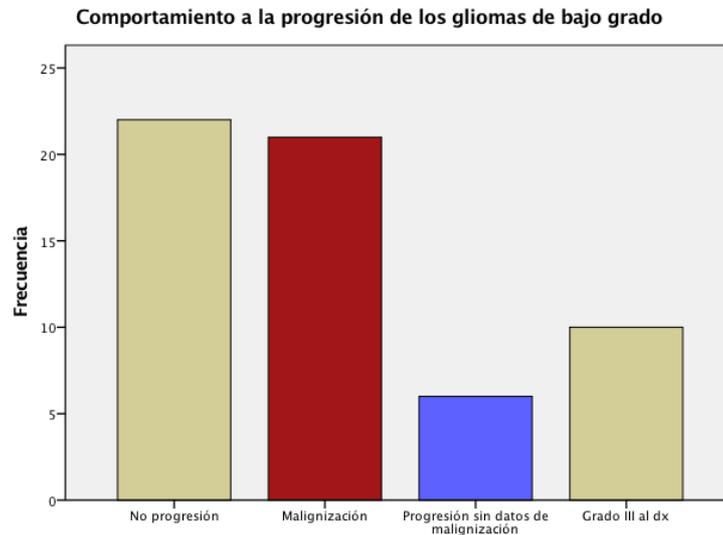
- La mediana de tiempo de progresión de la primera hasta una segunda progresión fue de 3 años.
- La mediana de tiempo a la progresión de segunda a tercera progresión es fue de 1.25 años.

Además, en este estudio se evaluó la posible transformación a alto grado de los gliomas inicialmente diagnosticados de bajo grado. Se consideró que existía una progresión hacia un mayor nivel de malignidad si en las recaídas presentaban captación de contraste y/o si en la cirugía de la recaída se confirmaba histológicamente este cambio de grado:

- Un 35.6% de los casos tuvieron progresión tumoral con datos de malignización en el momento de la progresión (bien por RM o por AP). Del total de pacientes de bajo grado (59 casos), en 21 se ha podido objetivar mayor agresividad en el momento de la primera progresión.
- Un 26.9% no se disponía de información sobre la situación de la malignización en el momento de la progresión.
- El porcentaje de malignización en relación a los que se consideró que había una progresión ha sido del 54% (21 casos con datos de

malignización de 39 con datos de progresión).

- En los que se malignizaron, la mediana de tiempo hasta la malignización fue de 5.11 años



4.2.3. Comparación de datos clínicos de la cohorte inicial y la cohorte reclasificada.

Los datos clínicos de la muestra inicial y la muestra tras la reclasificación son similares en cuanto a distribución grado II/III, sexo, edad, extensión de la resección y el tipo de tratamiento recibido tras la cirugía.

La siguiente tabla resume esta información, así como los datos de supervivencia:

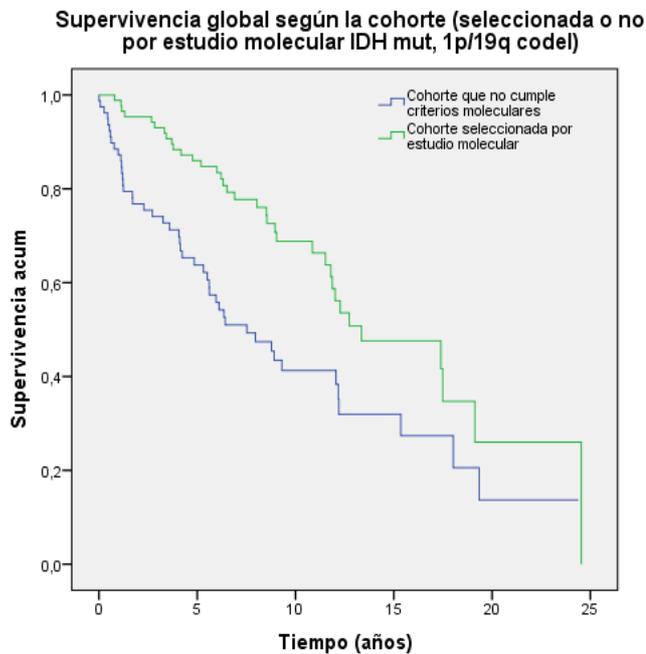
	Cohorte inicial: Muestra seleccionada por parámetros de AP morfológicos	Cohorte reclasificada: Muestra con los criterios OMS 2016
Numero de casos	182	91
Grado II/grado III (%)	65.4/ 34.6	64.8/ 35.2

Sexo: Mujeres/ hombres (%)	38.5/61.5	34.1/65.9
Edad (mediana)	44.8 (14-75)	44.67 (22-75)
Extensión de resección: Completa/parcial/biopsia (%)	46.7 /41.8/7.1	40.7/52.2/5.5
Recibieron RT adyuvante	50%	46.2%
Recibieron QT adyuvante	32%	31.9%
Supervivencia global de la cohorte reclasificada (mediana)	11.97 años	12.7 años
Oligodendrogliomas grado II. Mediana de SG	13.06 años	13.3 años
Oligodendrogliomas grado III. Mediana de SG	6 años	12 años
Supervivencia libre de progresión de toda la cohorte inicial (mediana)	5.69 años	6.28
Oligodendrogliomas grado II. SLP	5.95 años	7.13 años
Oligodendrogliomas grado III. SLP	4.01 años	4.8 años

Por otra parte, hemos comparado la supervivencia global de la cohorte de pacientes que cumplían criterios moleculares IDH mutado y 1p/19q codeleciónado con la cohorte que no cumplía estos criterios. Es decir, se compararon los datos de supervivencia de los pacientes de la cohorte reclasificada con la cohorte que quedó excluida la reclasificación:

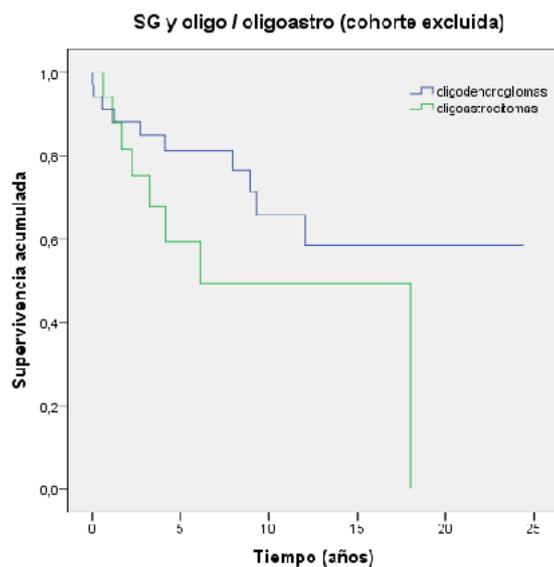
- Mediana de SG para los pacientes que no cumplían criterios (cohorte excluida): 7.529 (IC 95%4.67-10.38)

- Mediana de SG para los que cumplían criterios moleculares (cohorte recalsificada): 13.35 (IC95% 7.97-18.74)
- P=0.001



Cohorte excluida: evolución de los casos según la clasificación morfológica en oligodendroglioma y oligoastrocitoma:

- La mediana de supervivencia para los oligodendrogliomas fue no alcanzada
- La mediana de supervivencia para los oligoastrocitomas fue de 6.1 (IC95% 0-12.67)
- P=0.125



4.2.4. Reclasificación de los tumores considerados como oligoastrocitomas por la clasificación previa a 2016.

De la muestra inicial 40 casos habían sido considerados como oligoastrocitoma según el diagnóstico histológico presente previo a 2016.

En la muestra final de 91 casos seleccionado por cumplir criterios de la OMS de 2016 para oligodendroglioma, es decir, con mutación de IDH y codelección de 1p/19q, habían sido reclasificados desde oligoastrocitoma en 12 casos (13.2%), del total de 91 casos reclasificados.

Dicho de otra forma, del total de pacientes con oligoastrocitoma por características morfológicas, en un 30% de los casos (12 de 40) se etiquetaron como oligodendroglioma por criterios moleculares de la OMS de 2016.

4.2.5. Resultados globales en oligodendrogliomas de grado II en la cohorte reclasificada.

4.2.5.1. Oligodendrogliomas de grado II: evolución según el tratamiento quirúrgico.

4.2.5.2. Oligodendrogliomas de grado II: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia libre de progresión.

4.2.5.3. Oligodendrogliomas de grado II: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia global.

4.2.5. Resultados globales en oligodendrogliomas de grado II en la cohorte reclasificada.

Hemos podido identificar 59 casos con oligodendroglioma grado II con las características moleculares definidas por la OMS de 2016, presencia de mutación de IDH y codelección de 1p/19q.

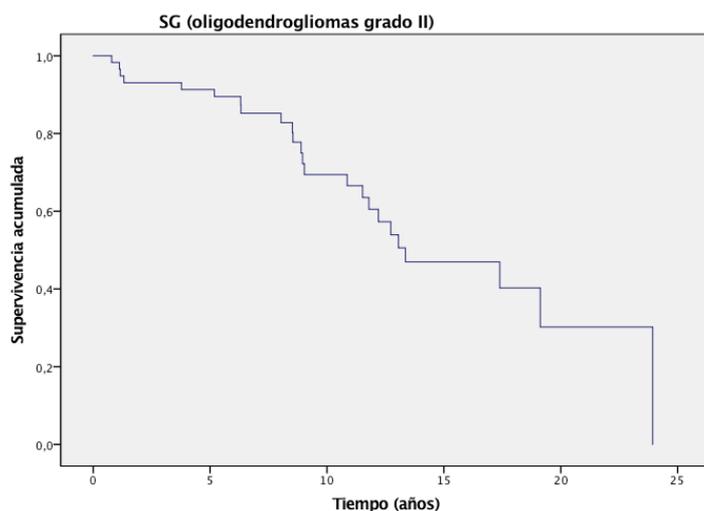
La mediana de tiempo de seguimiento fue de 8.35 años (0.64-13años).

De ellos había 39 hombres (66,1%) y 20 mujeres (33,9%).

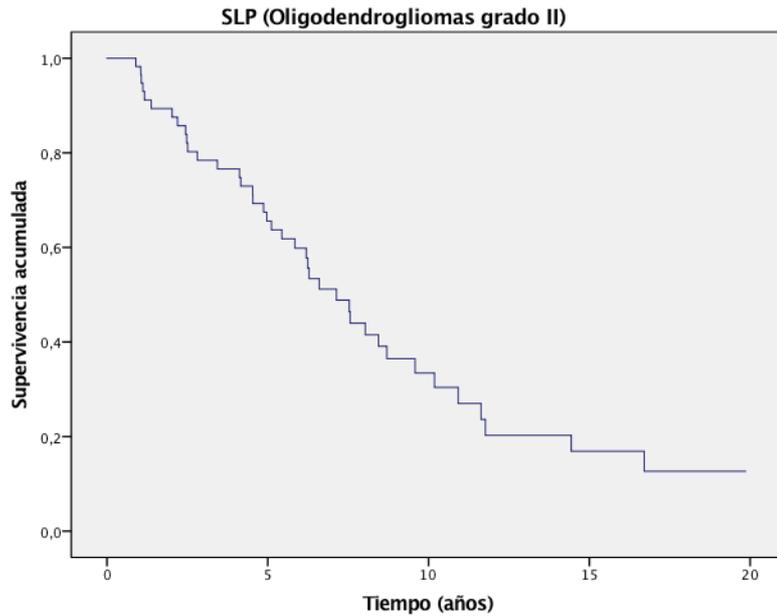
La edad mediana al diagnóstico fue de 44.59 años (22-75).

La localización fue a nivel frontal en 42 casos (71.2%), temporal en 8 casos (13.6%), parietal en 5 casos (8.5%), occipital en 1 caso (1.7%) y otras localizaciones en 3 casos (5.1%).

La mediana de supervivencia global fue de 13.35 años (IC 95% 8.27-18.44)



La mediana de supervivencia libre de progresión fue de 7.13 años (5.58-8.68 años).



4.2.5.1. Oligodendrogliomas de grado II: evolución según el tratamiento quirúrgico.

En cuanto al tratamiento recibido, en primer lugar, hemos analizado la extensión de la cirugía:

- Se realizó sólo biopsia en 4 casos (6.8%), resección parcial en 17 casos (28.8%), resección subtotal en 15 casos (25.4%) y resección completa en 21 casos (35.6%). En 2 casos no se encontró información sobre la extensión de la cirugía.

Los datos sobre la extensión de la cirugía proceden de los informes realizados tras el acto quirúrgico y se basan en la información aportada por el propio cirujano.

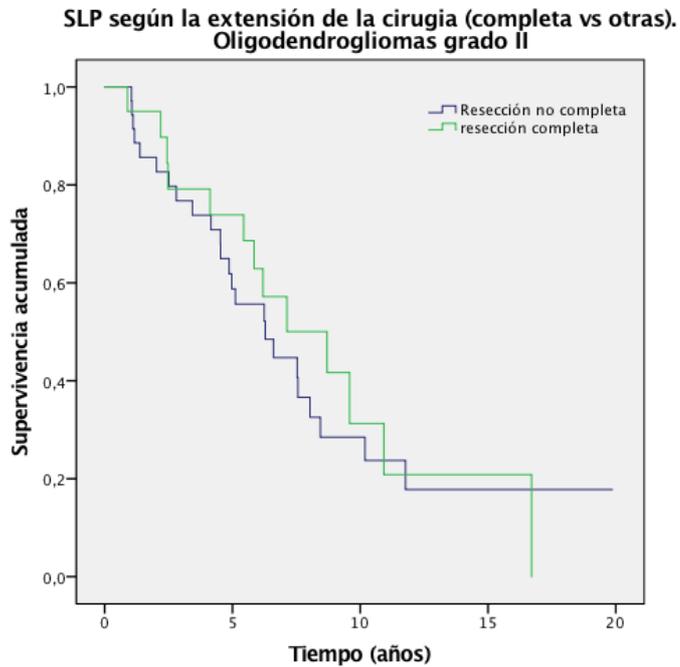
El impacto de la extensión de la cirugía en la supervivencia libre de progresión fue la siguiente:

La mediana de SLP para los que no tuvieron una resección completa fue de 6.28 años (IC 95% 3.92-8.64 años)

La mediana de SLP para los que tuvieron una resección completa fue de 8.70 años (IC95% 4.69-12.70)

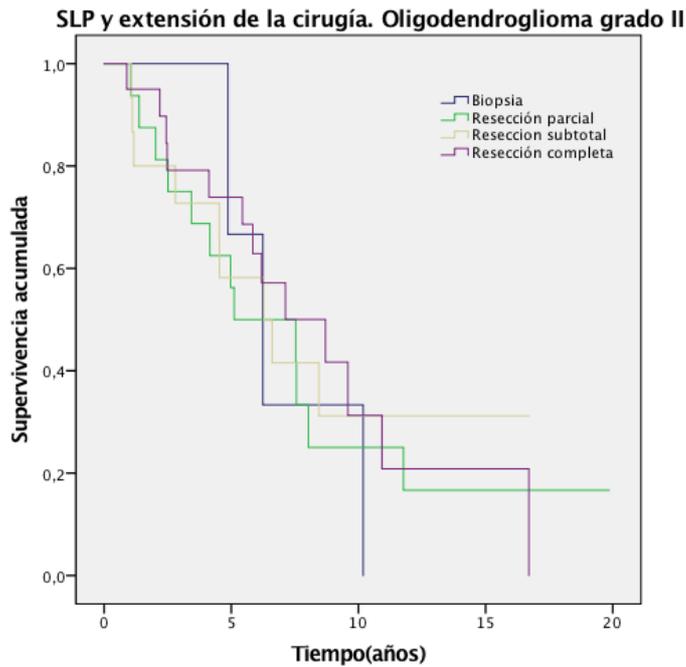
P=0.682

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas.



Se analizó el impacto de la extensión de la cirugía en la SLP: no se encontraron diferencias estadísticamente significativas:

- Mediana de SLP para biopsia de 6.24 años (IC95% 4.04-8.44)
- Mediana de SLP para resección parcial fue de 5.11 años (IC95% 0-8-9.42)
- Mediana de SLP para resección subtotal fue de 6.6 años (IC95% 3.37-9.93)
- Mediana de SLP para resección completa de 8.7 años (IC95% 4.69-12.7)
- P=0.804



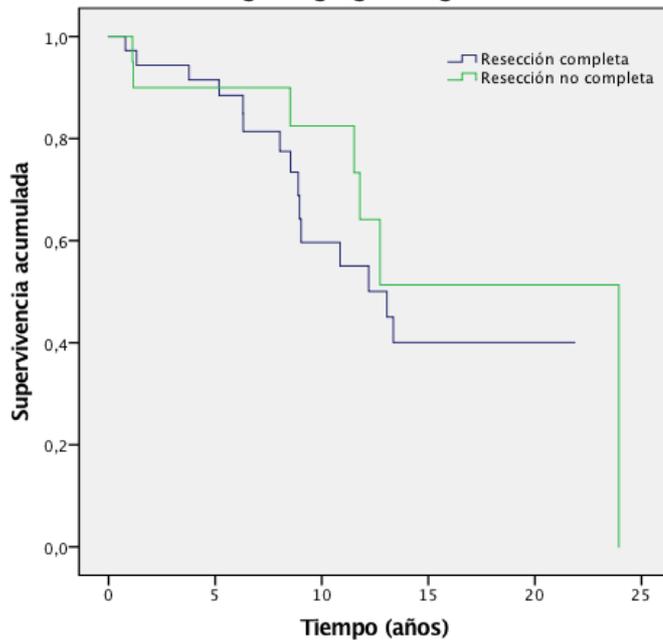
En cuanto a la supervivencia global según la extensión de la cirugía:

La mediana de supervivencia global fue de 13.06 años para los casos con resección no completa (IC95% 9.65-16.46)

La mediana de supervivencia global para los pacientes con resección completa fue de 23.93 años (IC -)

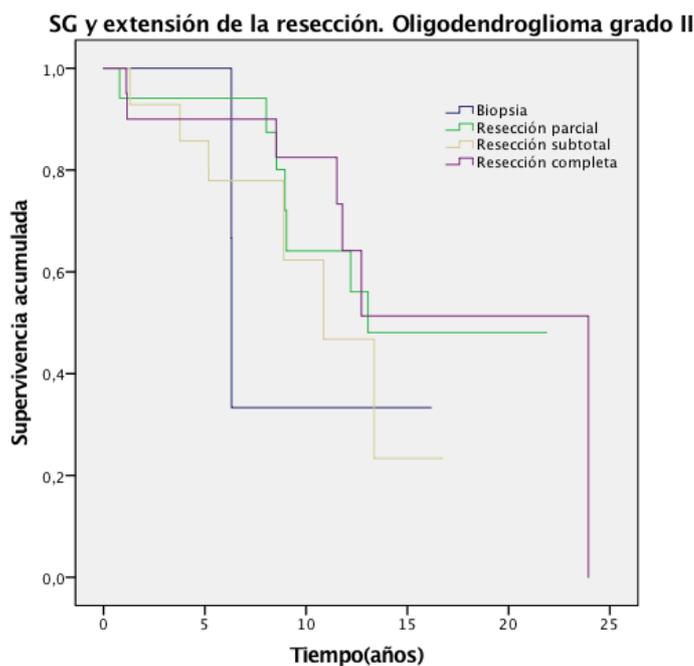
P=0.433

SG y extensión de la cirugía (completa vs no completa).
Oligodengrogloma grado II



Se analizó la SG en función de la extensión de la cirugía:

- La mediana de SG para pacientes con solo biopsia fue de 6.31 años (6.3-6.33)
- La mediana de SG para resección parcial fue de 13.09 (No IC)
- La mediana de SG para resección subtotal fue de 10.86 (IC95% 6.73-14.98)
- La mediana de SG para resección completa fue de 23.93 (No IC)
- P=0.560



4.2.5.2. Oligodendrogliomas de grado II: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia libre de progresión.

En cuanto al tratamiento postoperatorio:

Recibieron RT adyuvante tras la cirugía un 39% de los casos y no recibieron RT un 61%.

Recibieron quimioterapia adyuvante un 22% de los casos y 78% no recibieron quimioterapia adyuvante.

Recibieron radio-quimioterapia postoperatoria en 6 casos (10%).

No han recibido tratamiento adyuvante tras la cirugía el 49,2% de los casos (29 casos).

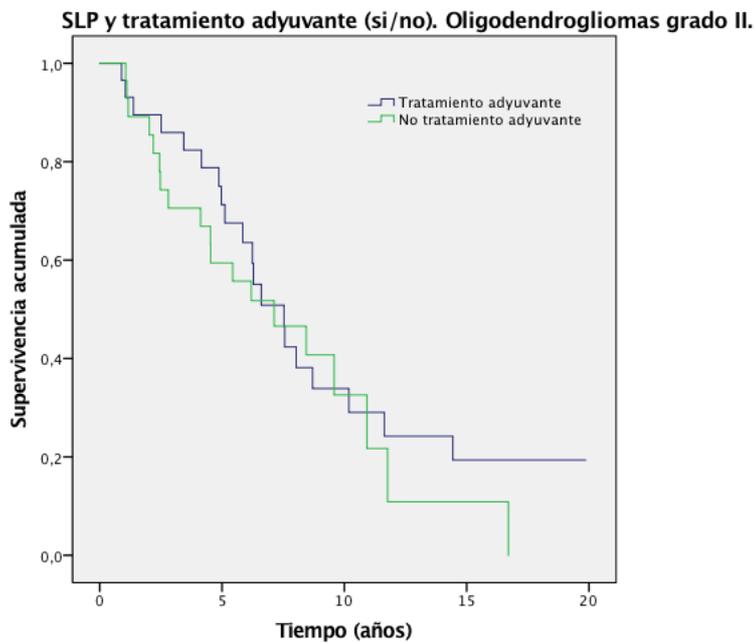
Recibieron radioterapia postoperatoria sola (sin quimioterapia) en 18 casos (30.5%) y otro tipo de recomendación postoperatoria 41 casos (69.5%).

Han recibido quimioterapia sola (sin radioterapia) en 7 casos (11.9%).

Al analizar la SLP para los pacientes que habían recibido algún tipo de tratamiento adyuvante frente a no haber recibido tratamiento adyuvante:

- La mediana de SLP para los que no han recibido ningún tipo de tratamiento adyuvante fue de 7.13 años (IC95% 3.20-11.06)

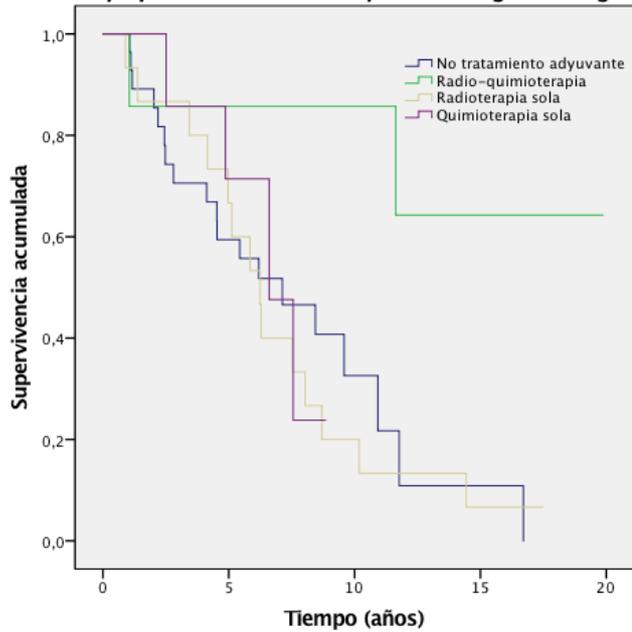
- La mediana de SLP para los que habían recibido algún tipo de tratamiento adyuvante fue de 7.53 años (IC95% 5.58-9.48)
- P=0.454



La SLP según el tipo de tratamiento recibido:

- Ningún tratamiento adyuvante: la mediana de SLP fue de 7.13 años (IC95% 3.20-11.06)
 - Tratamiento con quimio y radioterapia: la mediana de SLP fue no alcanzada
 - Tratamiento con radioterapia en monoterapia: mediana de SLP de 6.24 (IC95% 4.76-7.72)
 - Tratamiento con quimioterapia en monoterapia: mediana de SLP de 6.60 años (IC95% 4.11-9.09)
- P=0.124

SLP y tipo de tratamiento adyuvante. Oligodendrogliomas grado II.

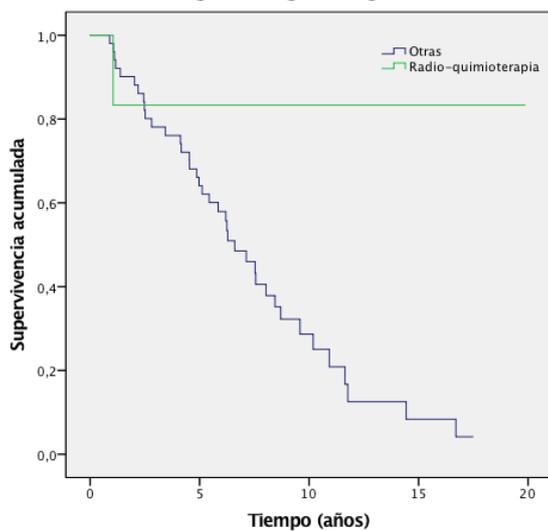


Al comparar los datos de aquellos casos que habían recibido radio y quimioterapia frente a otras opciones de tratamiento:

- Los pacientes tratados con quimio y radioterapia no alcanzaron la mediana de SLP
- Los pacientes que fueron tratados con otras opciones: mediana de 6.60 años (IC95% 5.04-8.16)

p=0.073

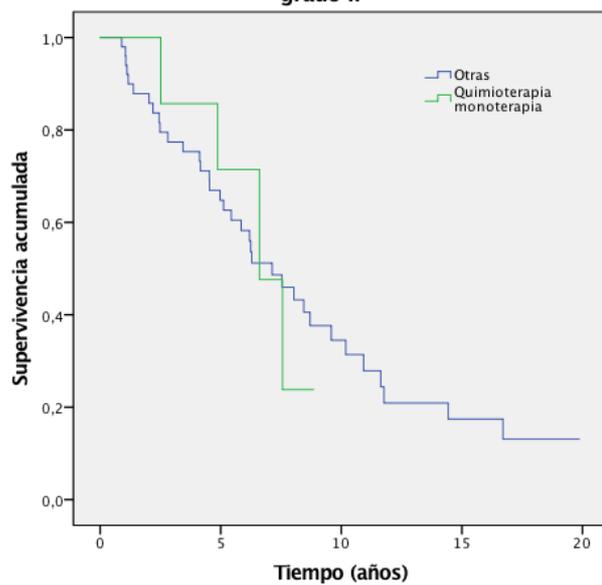
SLP y radio-quimioterapia adyuvante (si/no). Oligodendrogliomas grado II.



La SLP para pacientes tratados con quimioterapia en monoterapia frente al resto de opciones:

- La mediana de SLP para QT sola fue de 6.6 años (IC95% 4.11-9.09)
- La mediana de SLP para el resto de opciones de tratamiento fue de 7.13 (IC95% 5.03-9.23)
- P=0.979

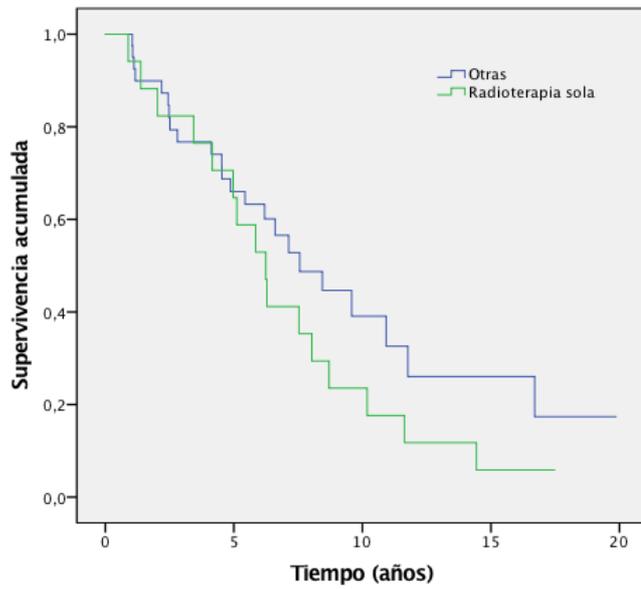
SLP y quimioterapia adyuvante vs otras. Oligodendroglioma grado II



La SLP para los que recibieron RT adyuvante en monoterapia o no fue de:

- Mediana de SLP para RT sola fue de 6.24 años (IC95% 4.67-7.81)
- Mediana de SLP para otras opciones de tratamiento 7.55 años (IC95% 4.88-10.23 años)
- P=0.316

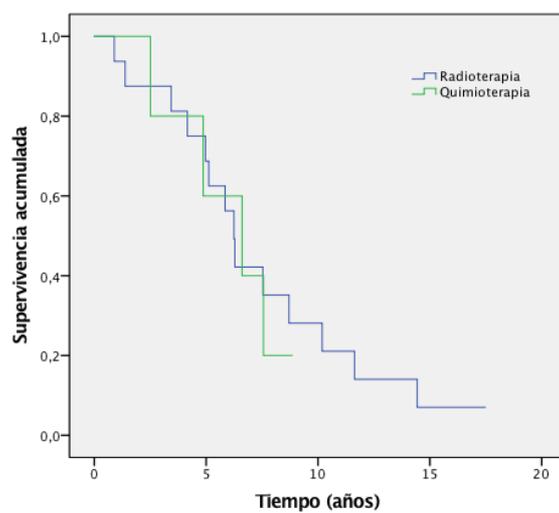
**SLP y radioterapia adyuvante en monoterapia vs otras.
Oligodendroglioma grado II.**



La SLP para los que recibían RT frente a quimioterapia sola

- La mediana de SLP para RT sola fue de 6.24 (IC95% 5.46-7.02)
- La mediana de SLP para quimioterapia sola fue de 6.60 (IC95% 2.88-10.32)
- P=0.879

**SLP y adyuvancia con radioterapia frente a quimioterapia
(monoterapia). Oligodendroglioma grado II**

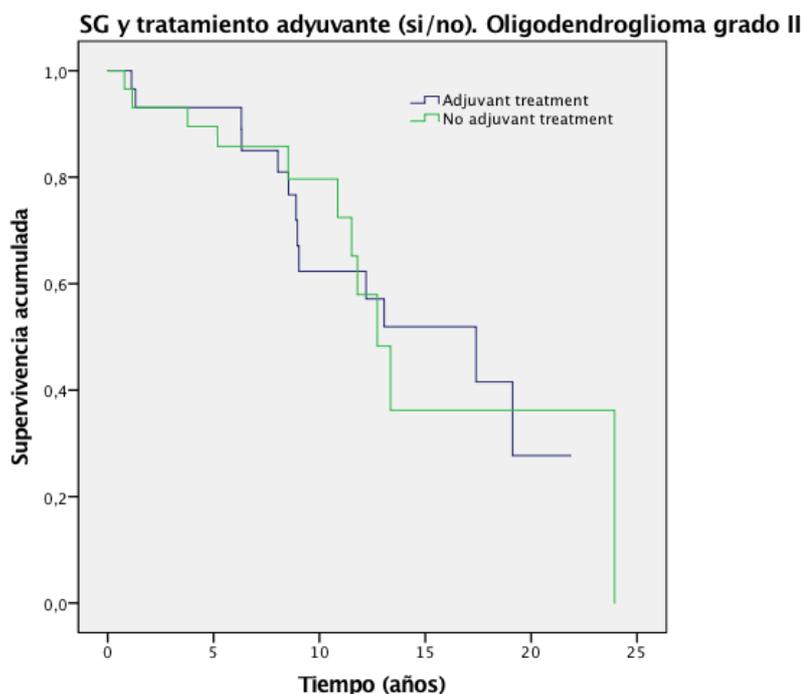


4.2.5.3. Oligodendrogliomas de grado II según el tratamiento postoperatorio.

Supervivencia global

Al analizar los datos de recibir algún tipo de tratamiento adyuvante frente a seguimiento:

- La mediana de supervivencia para los que han recibido algún tipo de tratamiento adyuvante fue de 17.39 años (IC 95% 9.11-25.66)
 - La mediana de supervivencia para los que no han recibido ningún tipo de tratamiento adyuvante fue de 12.73 años (IC 95% 10.81-14.64)
- P=0.871



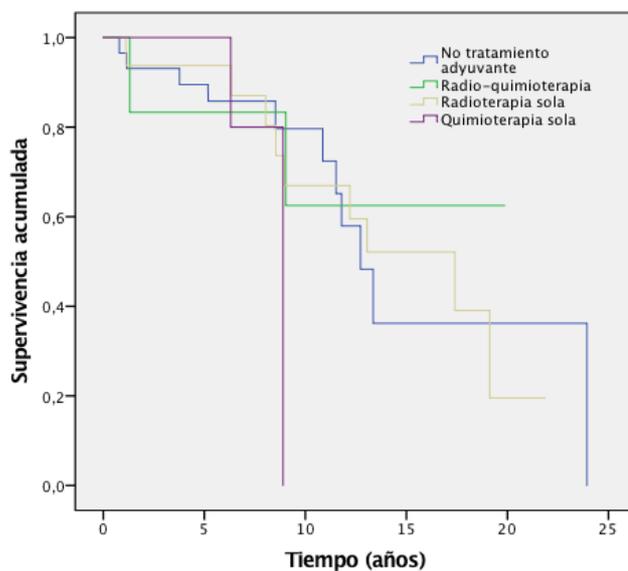
La SG en función del tipo de tratamiento adyuvante:

La mediana de SG:

- Para los pacientes que no recibían ningún tipo de tratamiento adyuvante: 12.73 años (IC95% 10.81-14.64)
- La mediana de SG para los que recibieron radio-quimioterapia: no alcanzada

- La mediana de SG para los pacientes que recibieron con radioterapia sola: 17.39 (IC95% 9.92-24.95)
- La mediana de SG para los pacientes que recibieron con quimioterapia sola: 8.89 años
P=0.807

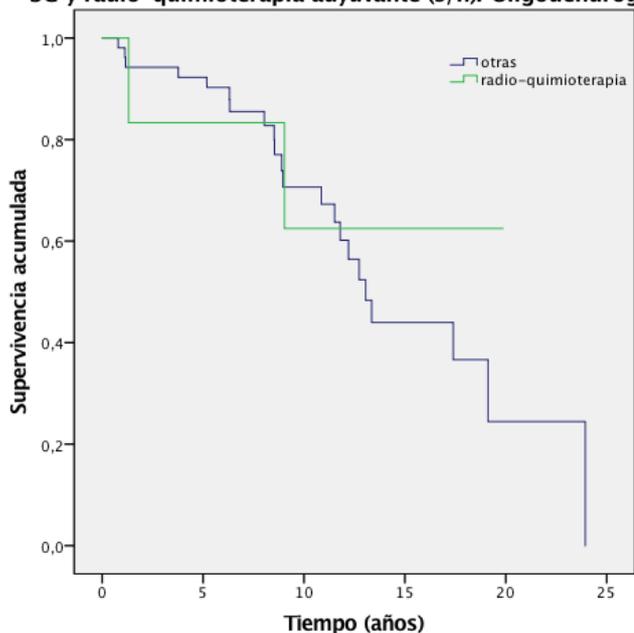
SG y tipo de tratamiento adyuvante. Oligodendrogliomas grado II



La supervivencia global en función de haber recibido radio y quimioterapia adyuvante fue de:

- Mediana de supervivencia global para radio-quimioterapia fue de no alcanzada
- La mediana de SG para otras opciones fue de 13.06 años (IC95% 14.4-14.72)
p=0.448.

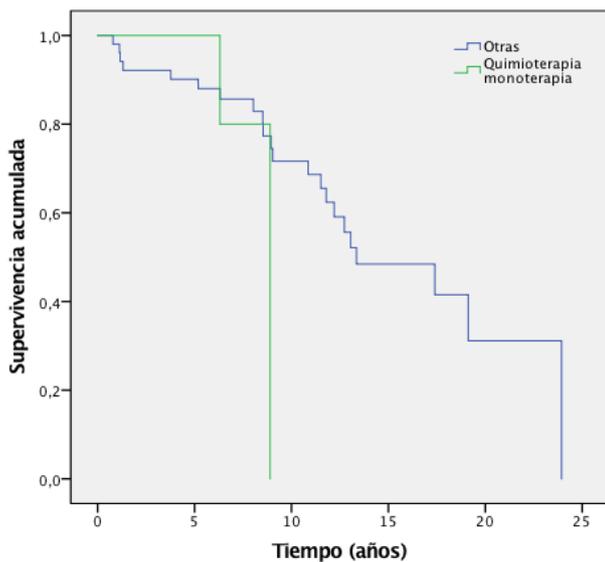
SG y radio-quimioterapia adyuvante (s/n). Oligodendrogliomas grado II.



SG en función de haber recibido QT en monoterapia frente al resto de opciones:

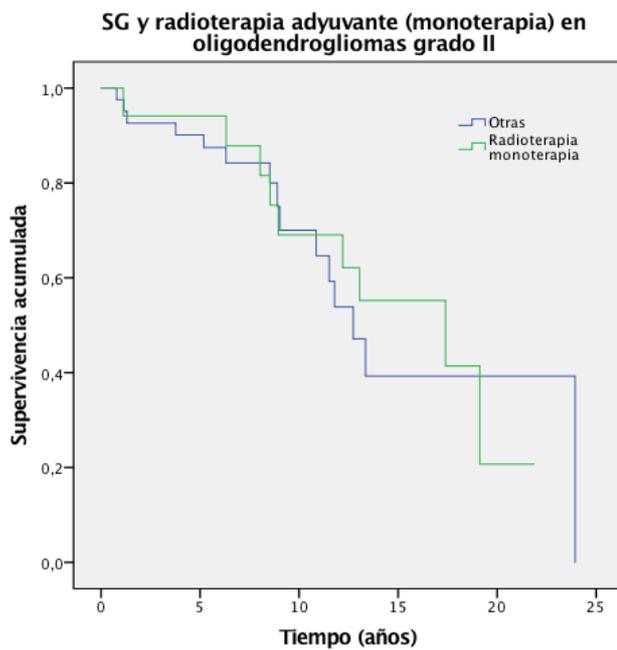
- Resto de opciones mediana de SG de 13.35 años (IC 95% 7.71 -19)
- Mediana de SG para los tratados con quimioterapia sola 8.89
- P=0.530

SG y quimioterapia adyuvante en monoterapia en oligodendrogliomas grado II



SG en función de haber recibido solo RT adyuvante frente al resto de opciones:

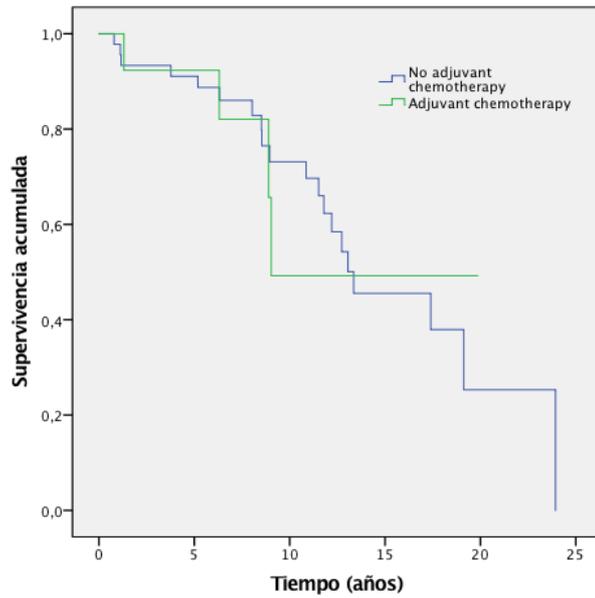
- Mediana de SG para los pacientes que recibieron RT sola de 17.39 (IC95% 7.99-26.79)
- Mediana de SG para resto de opciones de 12.73 (IC95% 10.69-14.76)
- $P=0.775$



La SG en función de haber recibido QT adyuvante (sola o con RT):

- Para los que recibieron QT en adyuvancia, la mediana de SG fue de 9.03
- Para los que no recibieron QT en adyuvante, la mediana de SG fue de 13.359 (IC95% 8.6-18.1)
- $P=0.810$

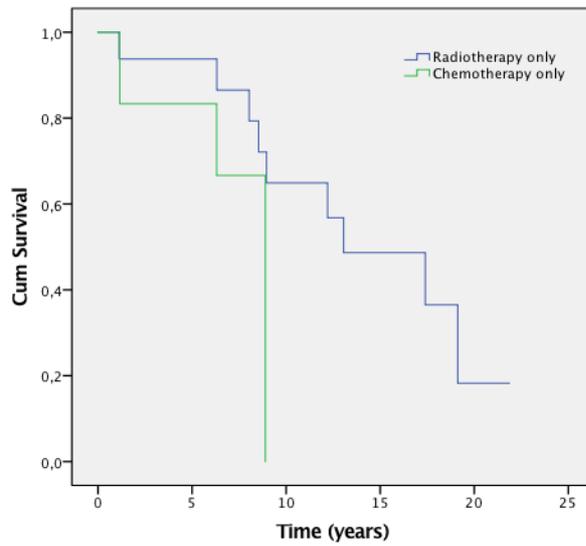
SG y quimioterapia adyuvante (monoterapia o combinación). Oligodendrogliomas grado II



Supervivencia global en función de haber recibido quimio o radioterapia adyuvante en monoterapia)

- Mediana de supervivencia con radioterapia adyuvante sola: 13.06 años (IC 6.15-19.96)
- Mediana de supervivencia con quimioterapia adyuvante sola: 8.89 años (no IC)
- P=0.214

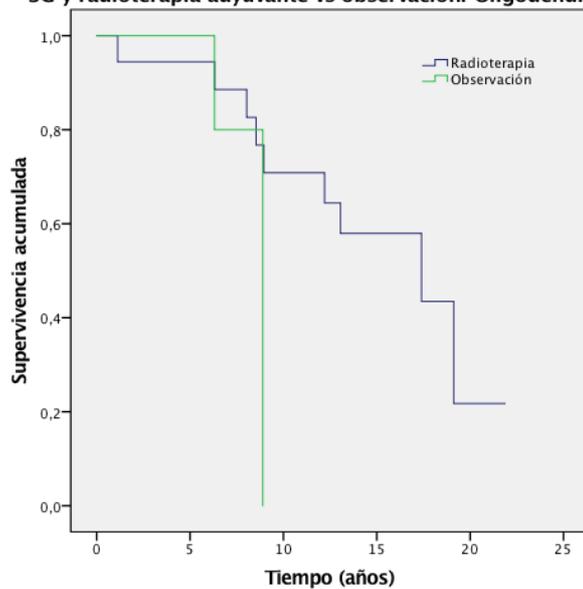
OS and adjuvant radiotherapy vs chemotherapy. Grade II oligodendroglioma



Cuando se analizó la SG en función de haber recibido RT vs observación

- La mediana de SG para los pacientes tratados con RT fue de 19.39 años (IC95% 8.29-26.49)
- La mediana de SG para los que siguieron en observación fue de 8.89 años (no IC)
- P=0.391

SG y radioterapia adyuvante vs observación. Oligodendroglioma grado II



Análisis de supervivencia según los factores clínicos pronósticos descritos de edad y extensión de la cirugía:

En esta serie reclasificada, hemos encontrado que cumplían criterios de bajo riesgo (<40 años con resección completa), en 11 casos (18%) y criterios de alto riesgo en 47 casos (79%).

La mediana de SLP para los pacientes con oligodendroglioma de grado II y alto riesgo que no han recibido tratamiento adyuvante fue de 8.44 años (IC95% 1.92-14.96) y la SG fue de 12.73 (IC 9.4-16.05).

Para el caso de los oligodendrogliomas de grado II y bajo riesgo, (<40 años con resección completa), encontramos un total de 8 casos y la mediana de SLP fue de 6.19 años (IC95% 4,18-8,21). La SG no había sido alcanzada.

4.2.6. Resultados de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado III en la cohorte reclasificada.

4.2.6.1. Oligodendrogliomas de grado III: evolución según el tratamiento quirúrgico.

4.2.6.2. Oligodendrogliomas de grado III: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia libre de progresión.

4.2.6.3. Oligodendrogliomas de grado III: evolución según el tratamiento postoperatorio. Supervivencia global.

4.2.6. Resultados globales de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado III en la cohorte reclasificada.

Se han encontrado un total de 32 casos de oligodendroglioma anaplásico (35.16% del total de casos analizados), con las características moleculares definidas por la OMS 2016 (presencia de mutación de IDH y codeleción de 1p/19q).

La mediana de tiempo de seguimiento fue de 8.53 años (IC4-13.2).

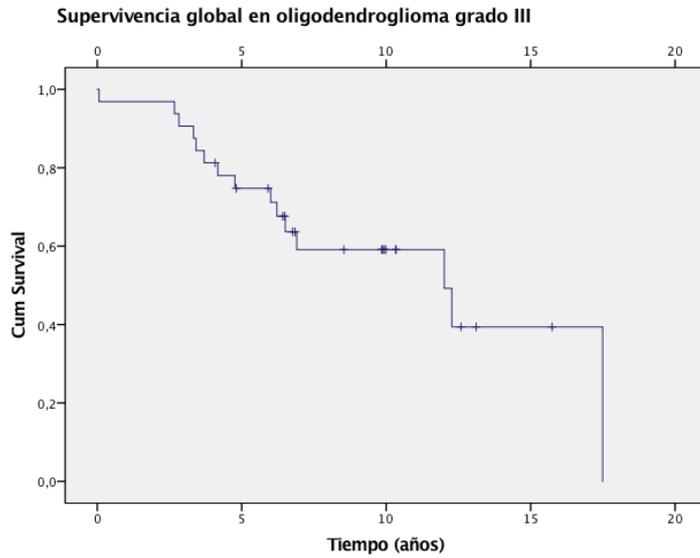
Por sexo, se encontraron 11 mujeres (34.4%) y 21 hombres (65.6%).

La edad media fue de 45.02 años (32.96-68.29).

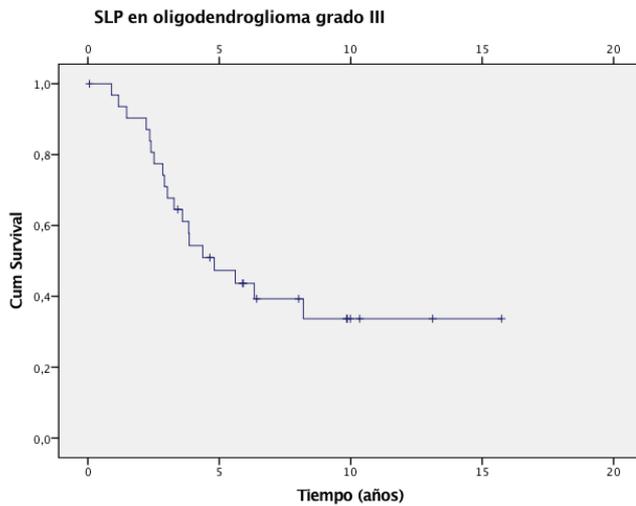
La localización fue a nivel frontal en 21 casos (65.6%), temporal 3 casos (9.7%),

parietal en 1 caso (3.2%), otras localizaciones en 7 casos (22.5%).

La supervivencia global fue de 12.01 (IC95% 5.66-11.35) años.



La mediana de SLP fue de 4.8 años (IC95% 2.55-7.06)



4.2.6.1 Oligodendrogliomas de grado III: evolución según el tratamiento quirúrgico.

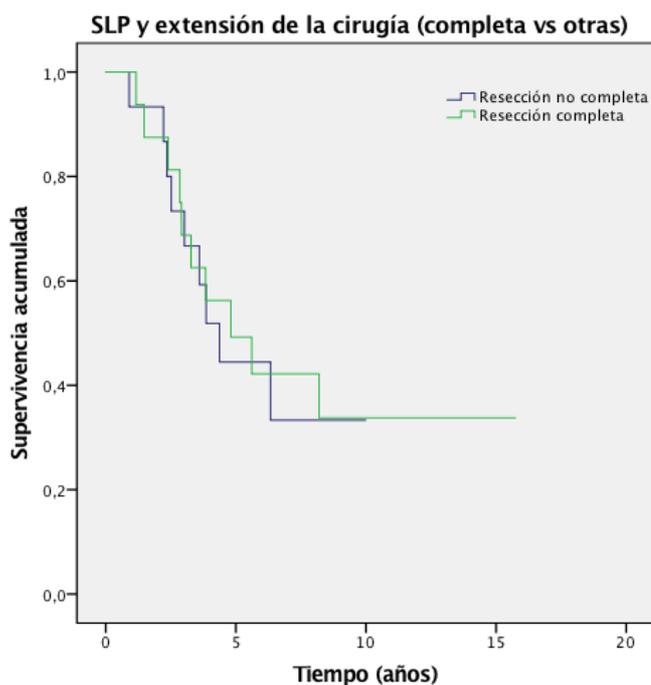
Se analizó la extensión de la cirugía:

Se realizó una biopsia como método quirúrgico en 1 paciente (3.1%), un 25% (8) de los casos se realizó una resección parcial; en un 21.9% (7) se realizó resección subtotal y en un 50% (16 casos) se consideró la cirugía como completa.

Los datos sobre la extensión de la cirugía proceden de los informes postquirúrgicos, según la información aportada por el propio cirujano.

El impacto encontrado de estos tratamientos en cuanto a SLP fueron los siguientes:

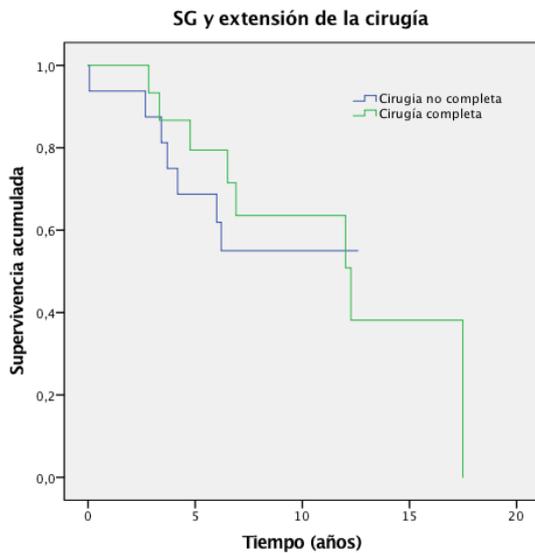
La mediana de supervivencia libre de progresión para los pacientes con resección no completa fue de 4.37 años (IC95% 3.01- 5.73) y para los pacientes con resección completa fue de 4.8 (IC95% 1.67- 7.93) $p=0.87$.



Tampoco se observó impacto en la supervivencia global dependiendo de la extensión de la cirugía (completa vs no completa).

La mediana de supervivencia global para los pacientes con resección no completa no se ha alcanzado y la mediana de supervivencia para aquellos con resección completa fue de 12.27 (IC95% 5.64-18.89).

P=0.621



4.2.6.2. Resultados para los oligodendrogliomas de grado III según el tratamiento adyuvante postoperatorio. Supervivencia libre de progresión.

Tratamiento postoperatorio recibido:

Recibieron RT adyuvante tras la cirugía un 59.4% de los casos.

Recibieron QT adyuvante un 50% de los casos

Tras la cirugía, recibieron quimiorradioterapia en 31.3% de los casos.

Recibieron radioterapia postoperatoria (sin quimioterapia) en 9 casos (28.1%).

Recibieron quimioterapia sola (sin radioterapia) en 5 casos (15.62%).

Hubo casos que no recibieron ningún tipo de tratamiento en la adyuvancia (ni radio ni quimioterapia), un 18.8% de los casos.

En un caso no se conocía esta información por pérdida de seguimiento del paciente.

Al analizar haber recibido algún tipo de tratamiento frente a no recibir ningún tratamiento adyuvante se ha encontrado una tendencia a mejor SLP sin alcanzar la significación estadística.

-La mediana de SLP para los pacientes que no han recibido tratamiento adyuvante fue de 2.39 (IC95% 0-5.23)

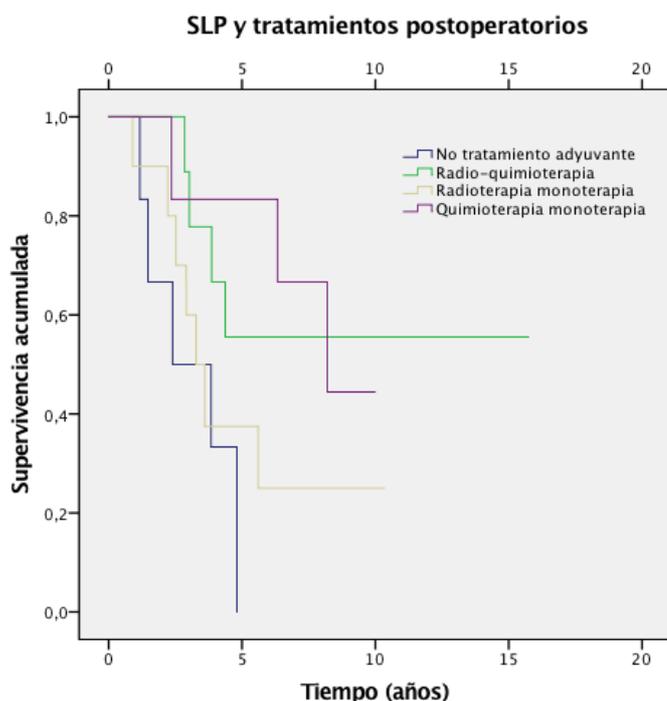
-La mediana de SLP para los pacientes que recibieron algún tipo de tratamiento adyuvante fue de 5.6 (IC95% 2.09-9.12).

P=0.069

La supervivencia libre de progresion en función del tratamiento recibido, ningún tratamiento, solo RT (sin quimioterapia), solo quimioterapia (sin radioterapia), o quimioradioterapia.

- Ningún tratamiento: mediana de SLP 2.39 años (0-5.23)
- Tratamiento con quimio y radioterapia: mediana de SLP : no alcanzada
- Tratamiento con Rt en monoterapia: mediana de SLP 3.27 (IC95% 2.20-4.35).
- Tratamiento con quimioterapia en monoterapia: mediana de SLP 8.2 años (IC95% 4.54-11.85)

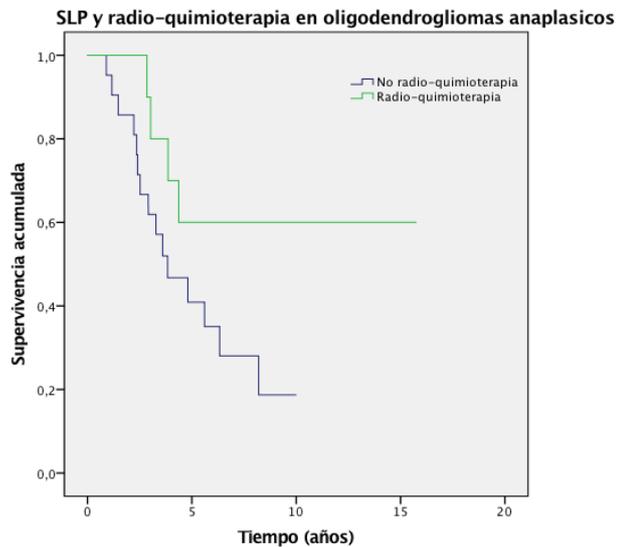
P=0.034



En los casos que habían recibido radio y quimioterapia frente al resto de casos la mediana de SLP fue de :

- En los casos que no habían recibido quimio y radioterapia: mediana de SLP 3.83 años (IC95% 1.79-5.87)

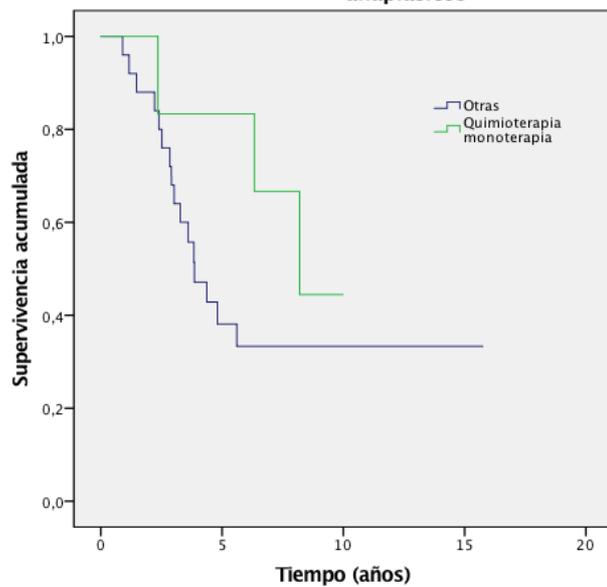
- En los casos tratados con quimio y radioterapia, mediana de SLP no alcanzada.
- $P=0.071$



La mediana de SLP para aquellos casos que han recibido quimio en monoterapia frente al resto de opciones:

- Mediana de SLP para aquellos casos tratados de manera distinta a la quimioterapia en monoterapia: 3.85 (IC 2.66-5.05) años.
- Mediana de SLP para aquellos tratados con quimioterapia en monoterapia: 8.2 (IC95% 4.54-11.85) años
- $P= 0.260$

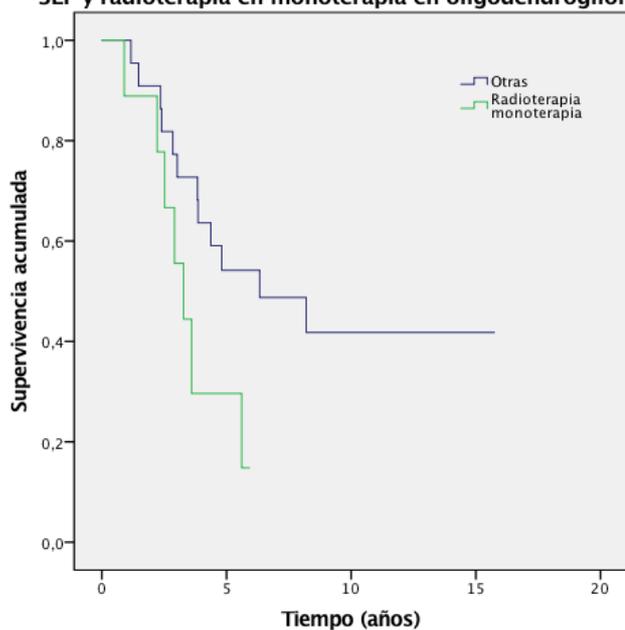
SLP y quimioterapia adyuvante en monoterapia en oligodendrogliomas anaplasicos



En aquellos casos tratados con sólo radioterapia frente al resto de situaciones (seguimiento, solo quimioterapia o radioquimioterapia) no encontraron diferencias significativas, pero en el límite de la significación estadística a favor de los casos con tratamiento diferente a la radioterapia en monoterapia.

- Mediana de SLP en los casos tratados con radioterapia en monoterapia fue de 3.27 (IC95% 2.2-4.35) años.
- La mediana de SLP para los tratados con otras opciones de tratamiento fue de 6.33 (IC95% 1.6-11.06) años.
- P=0.051

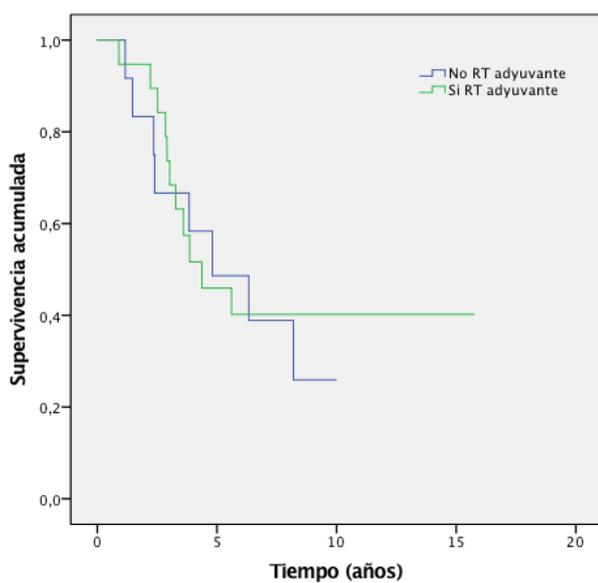
SLP y radioterapia en monoterapia en oligodendrogliomas anaplasticos



No se encontró beneficio estadísticamente significativo en términos de SLP diferenciando los casos con administración o no de radioterapia:

Mediana de SLP sin RT adyuvante 4.80 (IC 95% 1.08-8.53) y con RT 4.37 (IC 95% 1.69-7.04) $p=0.79$

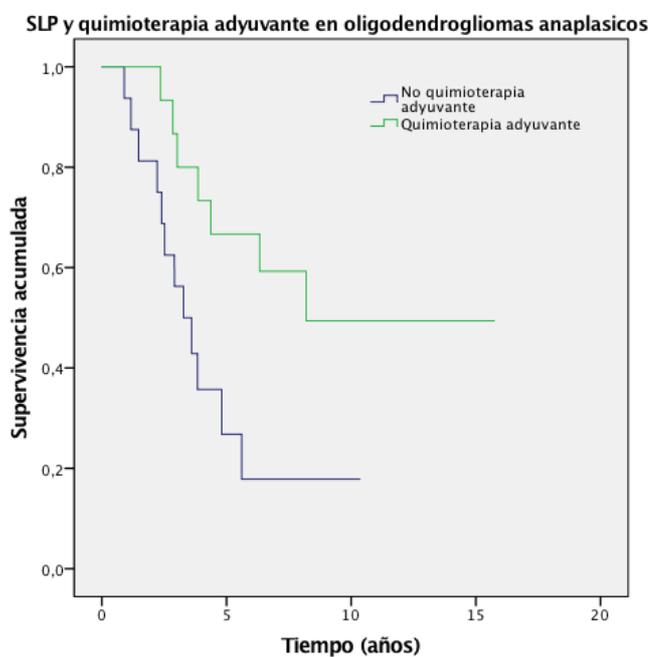
SLP y RT adyuvante (si/no) en oligodendrogliomas anaplásicos



Si analizamos la evolución de los pacientes que reciben quimioterapia adyuvante (quimioterapia sola o quimiorradioterapia) frente aquellos que no la reciben (radioterapia sola o ningún tratamiento), las diferencias son favorables para la rama de quimioterapia

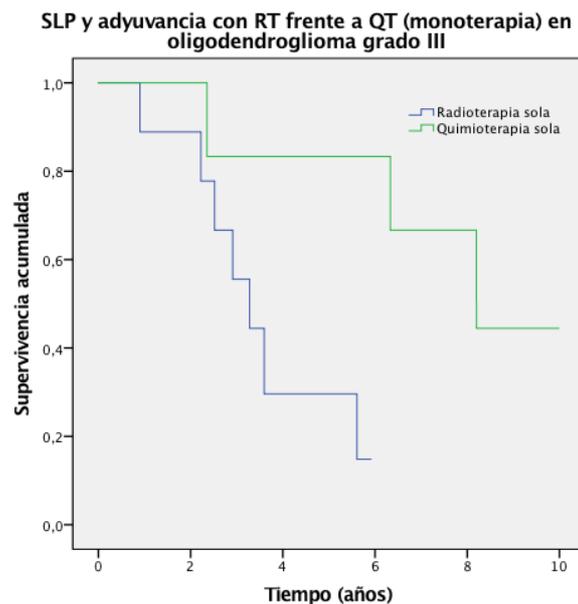
- Sin quimioterapia adyuvante mediana de SLP 3.2 años (IC95% 2.026-4.53)
- Con quimioterapia adyuvante mediana de SLP 8.2 años

P=0.016



La SLP para los que recibieron RT frente a QT sola en adyuvancia fue de:

- La mediana de SLP para RT sola fue de 3.27 años (IC95% 2.20-4.35)
- La mediana de SLP para los que recibieron QT sola fue de 8.2 años (IC95% 4.54-11.85)
- P=0.030



4.2.6.3 Oligodendrogliomas de grado III: evolución según el tratamiento adyuvante postoperatorio. Supervivencia global.

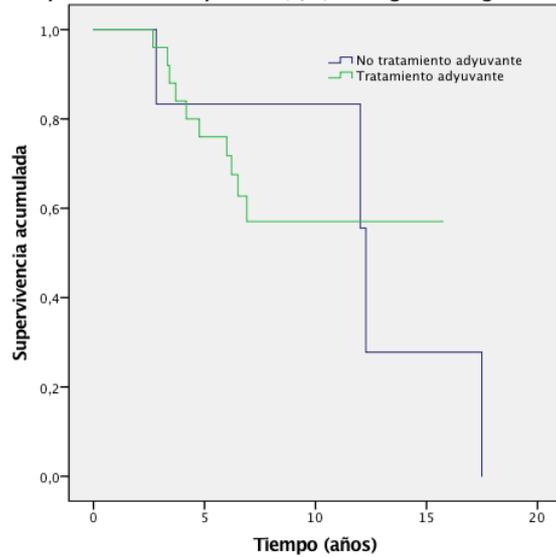
Se analizó la SG en función de haber recibido o no algún tipo de tratamiento adyuvante tras la cirugía.

No haber recibido tratamiento adyuvante se asoció con una SG de 12.27 años (IC95% 11.84-12.69).

Haber recibido algún tipo de tratamiento adyuvante: mediana de supervivencia no alcanzada.

P=0.912

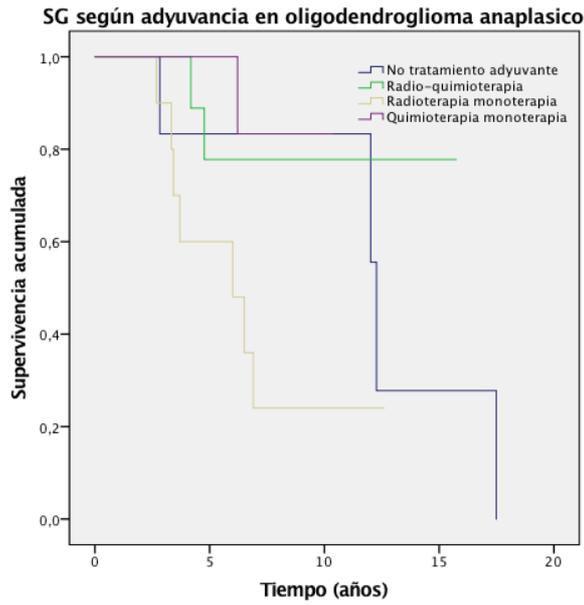
SG y tratamiento adyuvante (S/N) en oligodendrogliomas anaplasicos



Se analizaron los resultados obtenidos con los diferentes enfoques terapéuticos administrados:

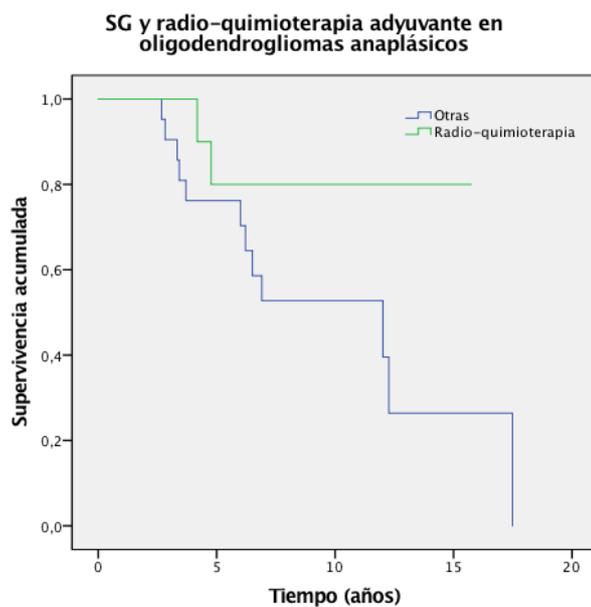
- No tratamiento adyuvante: mediana de SG 12.27 (IC95% 11.84-12.69)
- Administración de radio y quimioterapia: mediana no alcanzada
- Administración de solo radioterapia: mediana de SG 6.00 (IC95% 2.24-9.75)
- Administración de solo quimioterapia: mediana no alcanzada

P=0.024



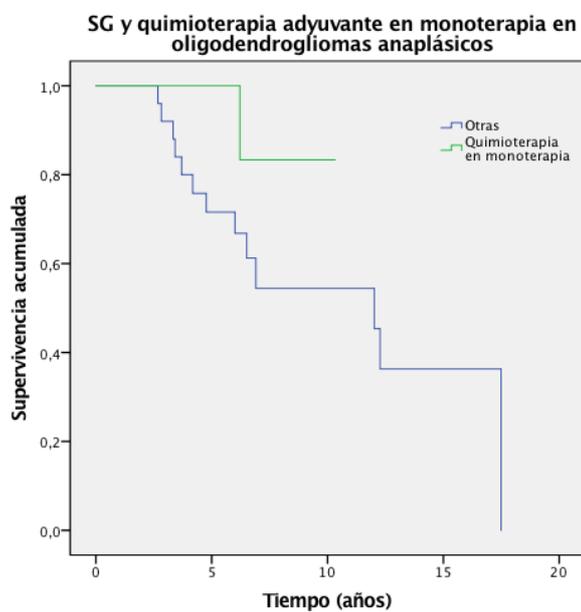
Se analizó el beneficio en SG de la administración de quimio y radioterapia frente a otras opciones de tratamiento

- Mediana de SG en pacientes con otros tratamientos no quimio-radioterapia 12.04 (IC95% 3.86-20.16) años
- Mediana de SG en pacientes tratados con radio-quimioterapia no alcanzado
- P=0.124



Los pacientes tratados con quimioterapia en monoterapia, frente a las demás opciones de tratamiento:

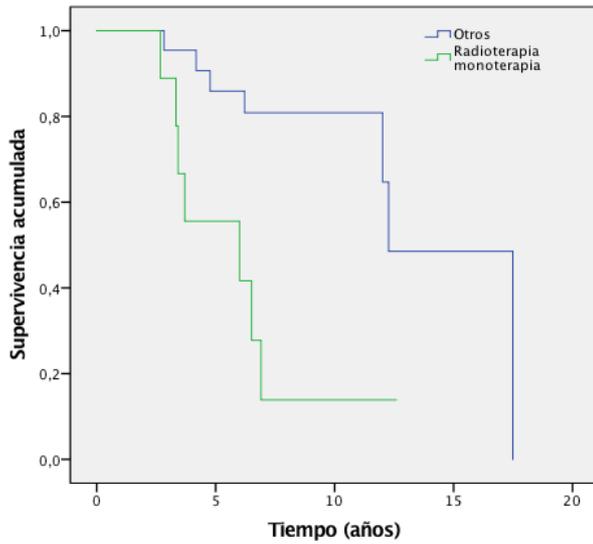
- Otras opciones, mediana de SG: 12.01 años (IC95% 6.31-17.38)
- Casos tratados con quimioterapia en monoterapia: no alcanzada
- P=0.217



Se analizó haber recibido solo radioterapia (en monoterapia) frente a otras alternativas de tratamiento:

- Solo radioterapia (monoterapia) mediana de SG de 6 años (IC95% 2.82-9.18)
- Otro tipo de tratamientos: mediana de SG 12.27 años (IC95% 7.44-13.20)
- P=0.004

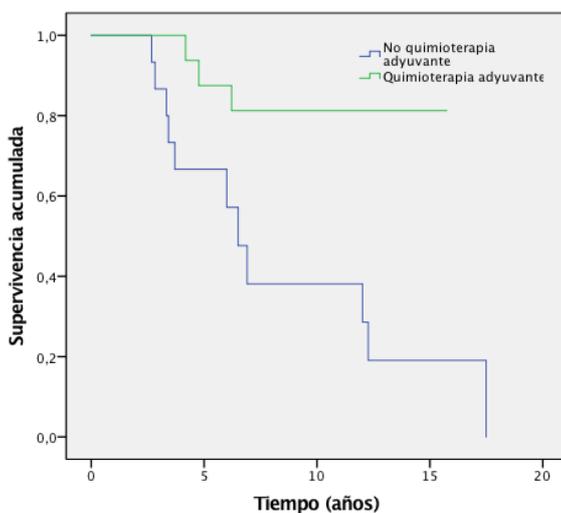
SG y radioterapia adyuvante (monoterapia) en oligodendrogliomas anaplásicos



Se analizó la supervivencia en función de haber recibido quimioterapia adyuvante (quimio sola o quimio-radioterapia) o no (radioterapia o nada):

- No tratamiento adyuvante con quimioterapia: mediana de SG de 6.51 años (IC95% 5.18-7.83)
- Tratamiento adyuvante con quimioterapia: mediana de SG no alcanzada
- P=0.011

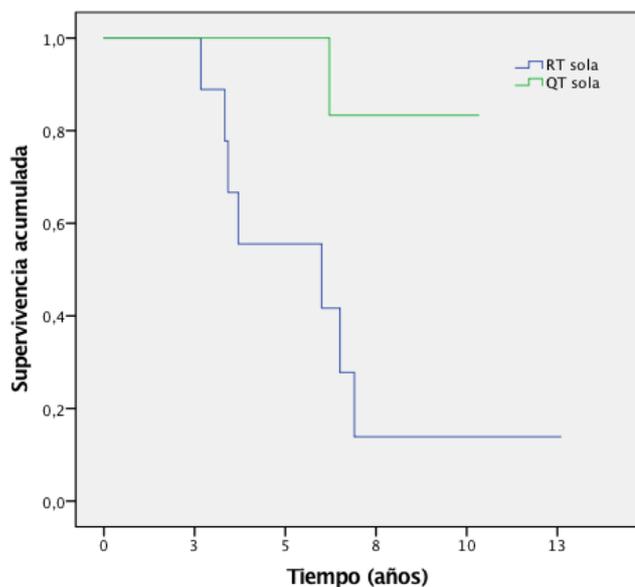
SG y quimioterapia adyuvante en oligodendrogliomas anaplásicos



Se analizó la evolución de los casos que recibieron solo QT o solo RT:

- La mediana de SG para los tratados con solo RT fue de 6 años (IC0.39-11.61)
- La mediana de SG para los tratados con QT sola no alcanzada
- $P=0.013$

**SG según el tratamiento postoperatorio (QT vs RT monoterapia).
Oligodendroglioma grado III.**



La mediana de supervivencia global tras la recaída fue de 3.62 años (IC95% 1.64-5.60)

El tipo de tratamiento que recibieron estos pacientes a la recaída fue:

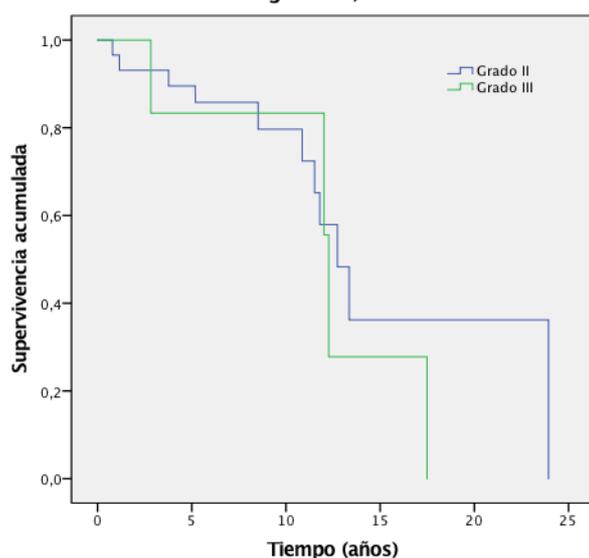
- En 18 casos, ninguno (56%)
- Cirugía en 4 casos (12.5%)
- Cirugía y RT en 3 casos (9.5%)
- QT 2 casos (6.3%)
- Otros (1 caso) se trataron con radioterapia sola, radiocirugía, cirugía + radioterapia + PCV; cirugía +temozolomida; RT+ PCV

Se comparó la supervivencia global en aquellos casos que no recibieron ningún tratamiento adyuvante y se comparó la evolución entre los de grado II y los de grado III:

Un total de 35 casos no recibieron ningún tipo de tratamiento postoperatorio, 29 casos eran oligodendrogliomas de grado II y 6 casos oligodendrogliomas de grado III.

- La mediana de supervivencia global para los oligodendrogliomas de grado II fue de 12.73 (IC95% 10.81-14.64)
- La mediana de supervivencia global para los oligodendrogliomas de grado III fue de 12.27 años (IC95% 11.84-12.69)
- P=0.441

SG en pacientes sin tratamiento postoperatorio (grado II vs grado III)



4.3 Datos moleculares de la cohorte tras aplicar los criterios de la OMS 2016. Cohorte reclasificada.

4.3.1. Proceso de reclasificación según la OMS 2016

4.3.2. Datos moleculares de la cohorte reclasificada

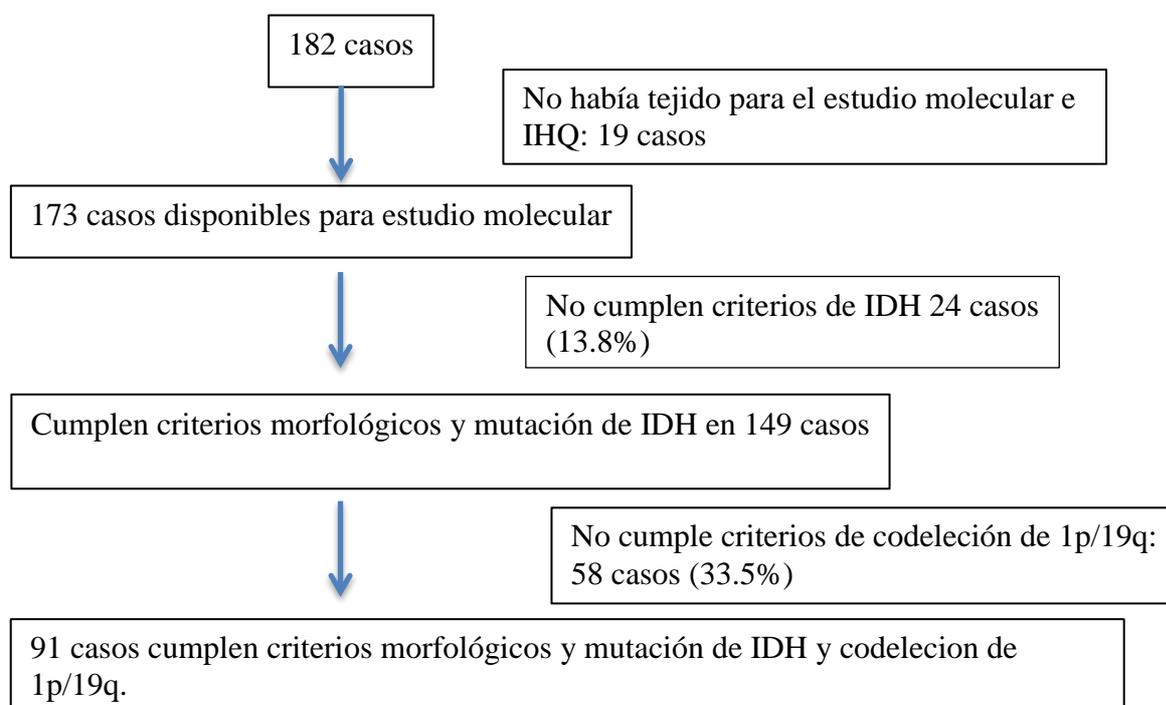
4.3.3. Análisis de la vía de las ciclinas en la cohorte reclasificada.

4.3.1 PROCESO DE RECLASIFICACIÓN SEGÚN CRITERIOS DE LA OMS DE 2016.

A continuación, exponemos el proceso de reclasificación de estos tumores. Para aplicar los criterios de la OMS 2016 en esta serie de casos, hemos seguido el algoritmo diagnóstico de la OMS 2016 planteado por Louis et al, descrito previamente en la introducción.

Por lo tanto, hemos empezado por determinar la mutación de IDH. La selección inicial se hizo por HRM, pero además se realizó IHQ en todos los casos para conocer los que tenían la mutación IDH1 R132H por inmunohistoquímica. En los casos discordantes se realizó secuenciación por NGS.

Una vez identificados los pacientes con mutación de IDH, se procedió a la determinación de 1p/19q por FISH en aquellos casos que o no estaba realizado o se creía necesario confirmar los datos disponibles.



Nos encontramos con la siguiente situación inicial:

Se identificaron 182 casos con los criterios morfológicos de oligodengrogloma/oligoastrocitoma (grado II y III), con los que se hizo el análisis inicial de casos descrito previamente. Correspondían a casos de los que teníamos todos los datos clínicos y habían sido clasificados por criterios morfológicos como oligodendrogloma o como oligoastrocitoma.

- En 19 casos no había tejido tumoral para hacer determinaciones moleculares ni inmunohistoquímicas. Estos casos también se retiraron del análisis final y quedaron por lo tanto 173 casos.
- De los 173 casos, se excluyeron 24 casos, al no tener mutación de IDH. En este momento, por lo tanto, quedaron seleccionados 149 casos.
- De los 149 casos que tenían mutación de IDH, se excluyeron 58 casos por no cumplir el criterio de codelección de 1p/19q, quedando un total de 91 casos que cumplían ambos criterios requisitos moleculares de la OMS 2016 (mutación de IDH más codelección de 1p/19q).

A) TECNICAS MOLECULARES REALIZADAS PARA LA CLASIFICACIÓN:

Aunque en el apartado material y métodos ya se ha detallado la secuencia de pruebas realizadas, lo revisamos aquí mediante el siguiente esquema para facilitar los detalles del proceso de reclasificación:

Determinación de la mutación de IDH por HRM: total de la muestra



Determinación de la codelección de 1p/19q en aquellos casos con mutación de IDH y en los que se tenían datos previos (1p/19q se había realizado carácter asistencial en el 51% de los casos). Se realizó por FISH.



Determinación IHQ: Tissue Array sobre los casos con muestra al diagnóstico. Se realizó IHQ de IDH, ATRX, p16, ciclina D, Rb y CK6.



Determinación de TERT por pirosecuenciación



Estudio NGS sobre casos dudosos (42 casos)

Vamos a detallar a continuación los detalles del procedimiento una vez realizada la técnica de mutación de IDH por HRM:

B) PROCESO DE DETERMINACIÓN DE 1P/19Q:

- En 93 casos (51%) tenían hecha la determinación de la delección de 1p/19q con carácter asistencial y en 89 casos esta información se desconocía (48.9%).
- De los que tenían hecha la determinación de la delección de 1p/19q:
 - o 68 casos tenían delección de 1p/19q. En estos casos no se repitió la técnica ya que estos datos se conocían por su determinación previa para su uso en la práctica clínica. Se pudo comprobar que todos ellos cumplían el criterio de mutación de IDH.
 - o El resto (25 casos) tenían otras situaciones (en 7 casos había pérdida aislada de 1p, en 1 caso tenía pérdida aislada de 19q, en 17 casos el resultado obtenido era de no codelección- no tenían codelección ni 1p ni 19q).
- Se realizó nueva determinación de 1p/19q por FISH en los casos donde no se había realizado previamente la determinación de 1p/19q, o bien se había encontrado

una delección parcial (bien 1p o 19q) o bien los datos no eran congruentes y se consideró necesario repetir la determinación de 1p/19q. El total de casos en los que se realizó 1p/19q fue de 81. De ellos se confirmó la codelección en 23 casos, que se incluyeron en la cohorte reclasificada. Por lo tanto, en 58 casos del total no se pudo detectar la pérdida de 1p/19q (ni por FISH ni por panel) y en 23 de esos 81 casos finalmente se confirmó codelección de 1p/19q.

Estos casos donde no se pudo confirmar la codelección de 1p/19q se eliminaron de la cohorte final al no poder confirmar que fueran oligodendrogliomas molecularmente.

C) PAPEL DEL PANEL NGS EN EL PROCESO DE RECLASIFICACIÓN

Se presentaron una serie de casos que generaban dudas diagnósticas. Estas dudas se decidieron resolver mediante la realización de un panel de NGS.

Se trata, como ya se ha explicado en el apartado de material y métodos, de un panel de 14-genes de panel NGS que permite la detección de mutaciones, variaciones en el número de copias (CNV), y también permite el estudio de la codelección de 1p/19q. De todos estos genes, para la clasificación y selección de la muestra se analizaron fundamentalmente IDH1, IDH2, TERT, ATRX y la codelección de 1p/19q ^[98].

Un total de 42 pacientes fueron revisados por esta técnica de panel de NGS. Las siguientes situaciones se presentaron como dudas diagnósticas y estos fueron los datos de la información de panel NGS:

1. Aportación del panel en la determinación de **1p/19q** mediante panel. Se analizó mediante panel en las situaciones en que se seguía considerando desconocido por problemas técnicos en el procedimiento del FISH, o como no codelecionado pero con datos discordantes según otros datos moleculares o existía una pérdida parcial:
 - **1p/19q desconocido:** estos casos seguían teniendo 1p/19q desconocido fundamentalmente por problemas técnicos de hibridación con el FISH. Se realizó en 16 casos.
 - De ellos, la NGS no fue valorable técnicamente, por muestra muy artefactada en 10 casos (62%). Excluidos de la muestra final.

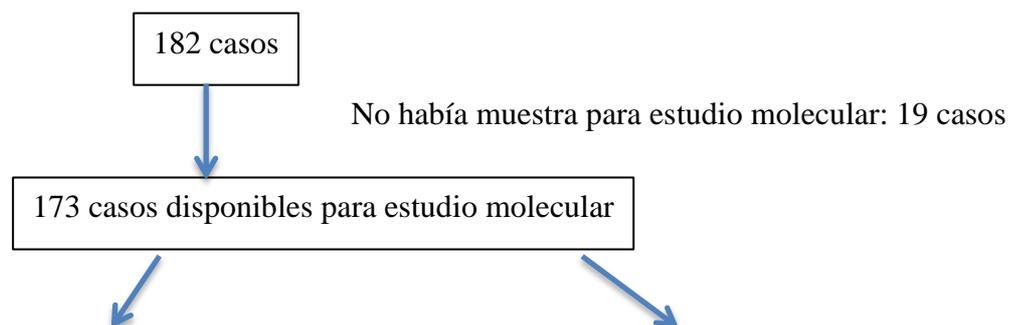
- De estos 16 casos, 6 casos (37.5%) sí pudieron dar otra información utilizando panel NGS:
 - No codeleccionados: 2 casos
 - Codeleccionados: 4 casos
- **1p/19q no codeleccionado** en los casos realizados previo al estudio, pero tenían mutación tanto de IDH y como de TERT (10 casos):
 - Resultaron finalmente codeleccionados por NGS 5 casos
 - Se definieron como no codeleccionados por NGS en 2 casos
 - La muestra estaba artefactada y no fue valorable por NGS:2 casos
- **Pérdida parcial 1p/o 19q** (se había realizado previo al estudio, con carácter asistencial): 4 casos (3 con pérdida parcial de 1p y 1 con pérdida de 19q)
 - Resultaron codeleccionado por NGS en 1 caso
 - Había muestra artefactada y no fue valorable 3 casos

Por lo tanto, se pudo comprobar la codelección de 1p/19q en 10 casos por esta técnica. Supone un 10% de los pacientes incluidos en la cohorte y un 41% de los analizados con este fin. En 5 casos no se obtuvieron resultados porque la muestra estaba artefactada.

2. Determinación de IDH mediante panel (5 casos):

- La razón fundamental para realizar panel NGS en estos 5 casos fue que se había encontrado la presencia de codelección (ya conocida por la determinación asistencial previo a entrar en el estudio) pero IDH no estaba mutado con las técnicas utilizadas (tras haber realizado IDH por HRM y por IHQ con anticuerpo IDH-R132H).
 - En 3 casos resultaron mutados para IDH, uno de ellos mutado para IDH2, otro, mutación en IDH1(salía no mutado por IHQ debido a baja expresión y mutado por HRM) y el tercero, mutación en IDH1, pero salió 1p/19q no codel en el NGS (y se excluyó).

- En 2 de ellos no había muestra o estaba muy artefactada. No se pudo determinar y se retiraron de la muestra final al no poder confirmar la mutación en IDH.
 - En los que se pudo confirmar la mutación de IDH se incluyeron en el análisis de la muestra reclasificada.
3. Determinación de ATRX mediante panel. Estos casos se habían estudiado previamente para ATRX por IHQ en el Tissue Array. Se revisaron 7 casos por NGS dado que la IHQ de ATRX no era congruente.
- En 2 de estos casos la pérdida de expresión (mutación) de ATRX era dudosa por IHQ y se realizó panel para su determinación. Los resultados no confirmaron la mutación de ATRX.
 - En 5 casos se objetivó mutación de IDH y 1p/19q codeleciónado y se observaba pérdida de expresión de ATRX por IHQ. A estos pacientes también se realizó panel.
 - En 2 de ellos la muestra estaba muy artefactada y no se pudo realizar NGS. Se incluyó en la muestra reclasificada ya que cumplía los criterios de IDH mutado y 1p/19q codeleciónado.
 - En 1 caso no se confirmó la mutación, pero TERT resultó WT y no se confirmó codeleción y se excluyó de la muestra reclasificada.
 - En 2 casos ATRX resultó no mutado por NGS. Se incluyeron en la muestra reclasificada.



No cumple criterios de IDH:
24 casos (13.8%)

No cumple criterios de 1p/19q:
58 casos (33.5%)

Número de casos en la cohorte final, tras la selección por criterios moleculares: 91

D) COMPARACION DE LAS TÉCNICAS DE DETERMINACION DE MUTACION DE IDH

Por otra parte, comprobamos los resultados de IDH realizado inicialmente por HRM y posteriormente por IHQ:

- IDH1: se encontró mutación por HRM en 82 casos (90.1%)
- IDH2: se encontró mutación por HRM en 9 casos (9,9%)

Resultados de IDH realizado por IHQ:

- IDH determinado por IHQ, con anticuerpo para IDH1 (R132H):
 - Positivos: 80 casos (88%)
 - Negativos: 6 casos (6.5%)
 - No valorables: 5 casos (5.5%)
- Por lo tanto, en 11 casos la IHQ (dirigido exclusivamente a la mutación de IDH1-R132H), no permitió el diagnóstico de mutación de IDH. A continuación, se detallan los datos discordantes entre la determinación IHQ y la HRM:
 - 1 negativos por IHQ tenían mutación en IDH1 por HRM
 - 4 casos negativos por IHQ tenían mutación para IDH2 por HRM.
 - 4 casos no valorables técnicamente por IHQ tenían mutación para IDH2 por HRM.
 - 1 casos no valorables por IHQ tenían mutación para IDH1 por HRM.
 - 1 caso no valorable

Por lo tanto, en un 88% de los casos se encontró la presencia de la mutación de ISH1 R132H, determinada por IHQ.

4.3.2. DATOS MOLECULARES DE LA COHORTE RECLASIFICADA:

A continuación, describimos los datos moleculares de la cohorte reclasificada:

- Por criterio de selección en la serie final reclasificada, todos tenían la mutación de IDH, ya que era uno de los criterios incluidos en la OMS 2016.
 - IDH1: se encontró mutación en IDH1 en 82 casos (90.1%).
 - IDH2: se encontró mutación en IDH2 en 9 casos (9.9%).
- La codeleción de 1p/19q la tenían todos los casos de la serie reclasificada dado que fue requisito para considerar el paciente como oligodendroglioma.
- TERT: Se encontró mutación de TERT en 80 casos (87.9%); fue WT en 4 casos (4.4%) y no se pudo realizar en 7 casos (7.7%), en estos casos no se pudo realizar por problemas técnicos.
 - Se encontró mutación de TERT en C250 en 33 casos (36.3%), la mutación en C228 se observó en 47 casos (51.6%).

4.3.2.1. Resultados del estudio molecular de los oligodendrogliomas de grado II

- Se ha detectado mutación en IDH1 en 52 casos (88.1%). No había mutación en IDH1 en 7 casos (11.9%).
- Por IHQ, IDH1 (R132H) estaba mutado en 50 casos (84.7%) y en 5 casos no se objetivó mutación. En 4 casos no había datos (por problema técnico de la muestra en el tissue array).
- Se ha detectado mutación en IDH2 en 7 casos (11.9%)
- TERT ha resultado mutado en 49 casos (83.1%), no mutado en 3 casos (5.1%) y no valorable en 7 casos (11.9%).
- En cuanto al tipo de mutación en TERT
 - WT en 3 casos (5.1%)
 - Mut C250T en 22 casos (37.3%)
 - Mut C228T en 27 casos (45.8%)
 - No valorable en 7 casos (11.9%)

Supervivencia en función de los datos moleculares:

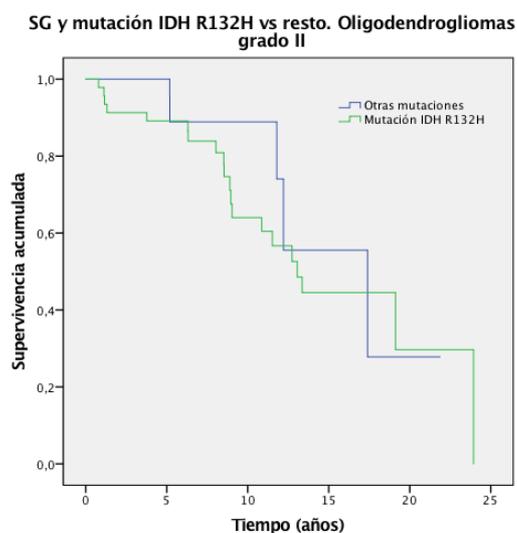
No se ha visto diferencias en SG en función del tipo de mutación de IDH

- Mediana de supervivencia IDH2 es de 11.79 (IC95% 7.4-16.18)
- Mediana de supervivencia de IDH1 es de 13.35 años (8.2-18.46)

p=0.671

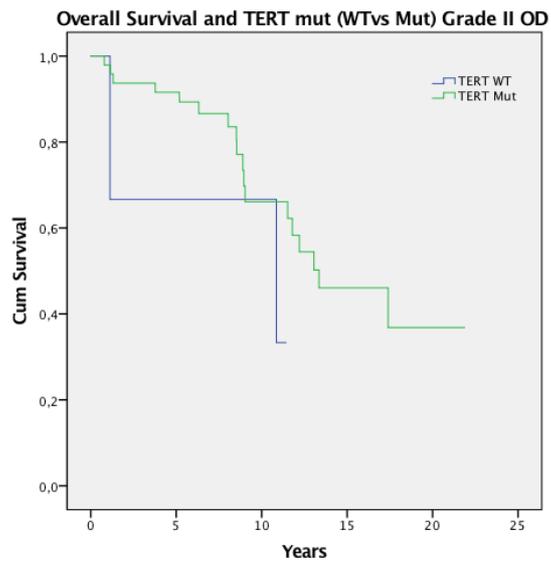
No se han visto diferencias en mediana de supervivencia global con la mutación de IDH R132H frente al resto

- La mediana de supervivencia global fue de la mutación R132H fue de 13.06 (IC95% 10.31-15.80)
- La mediana de supervivencia global para el resto de mutaciones fue de 17.39 (IC95% 9.31-25.46)3w
- P=0.586



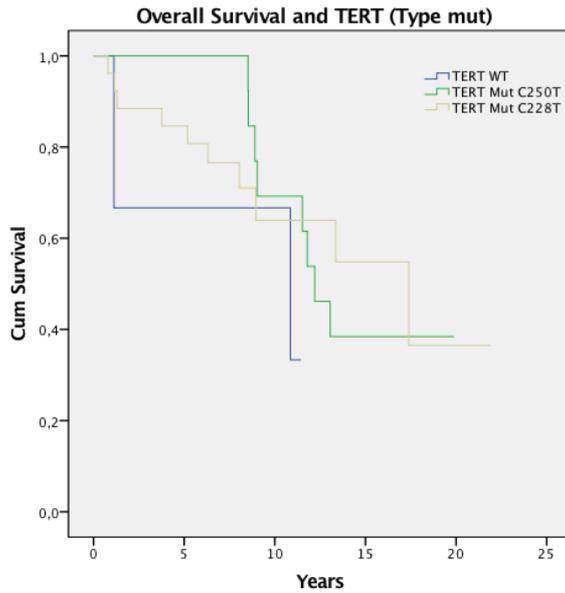
No se han encontrado diferencias en SG para pacientes con OD grado II en función de si TERT estaba mutado o no.

- TERT WT mediana de supervivencia 10.86 años (IC 95% 0-26.44)
- TERT mut mediana de supervivencia de 13.35 años (IC95% 8.5-18.21)
- P=0.256



No se han observado diferencias estadísticamente significativas en SG en función del tipo de mutación de TERT:

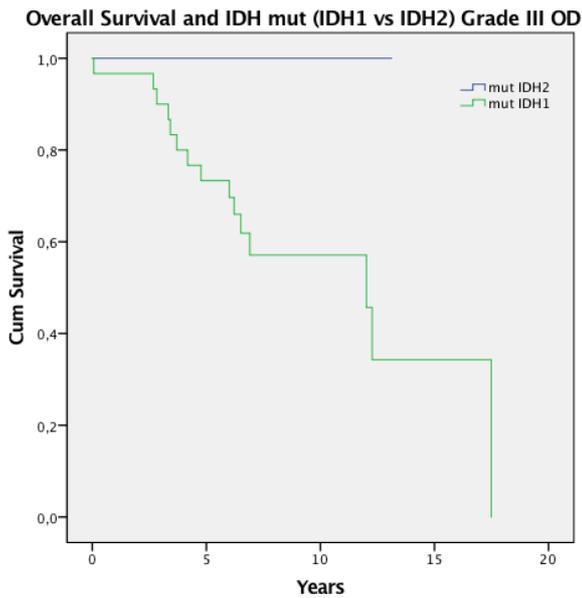
- WT la mediana de supervivencia fue de 10.86 años (IC95% 0-26.44 años)
- Mut C250T la mediana de supervivencia fue de 12.20 años (IC 95% 10.39-14)
- Mut C228T la mediana de supervivencia fue de 17.39 años (IC 95% 7.06-27.71)
- P= 0.506



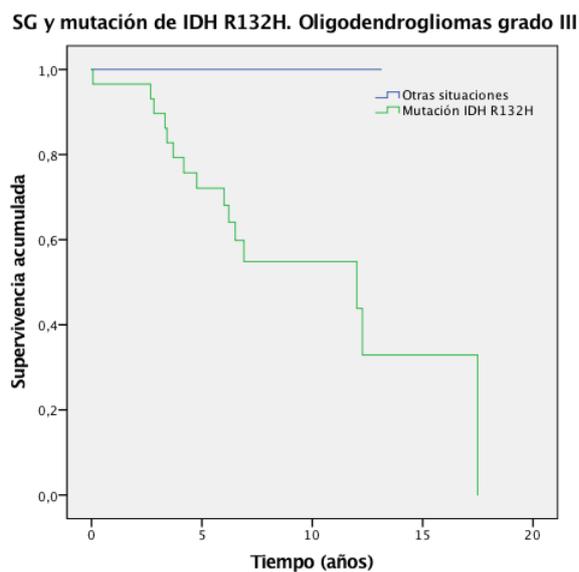
4.3.2.2. Resultados según el estudio molecular en oligodendrogliomas grado III.

- IDH1 por HRM 30 casos (93.8%)
- IDH2 por HRM 2 casos (6.3%)
- IDH por IHQ:
 - Positivo: 29 casos (93.5%): R132H +
 - Negativo: 2 casos (6.3%)
 - No conocido 1 caso (3.1%)
- TERT mutado. No mutado 1 caso (3.1%). Mutado 31 casos (96.9%)
- TERT tipo de mutación.
 - WT 1 caso (3.1%)
 - Mut C250T en 11 casos (34.4%)
 - Mut C228T en 20 casos (62.5%)

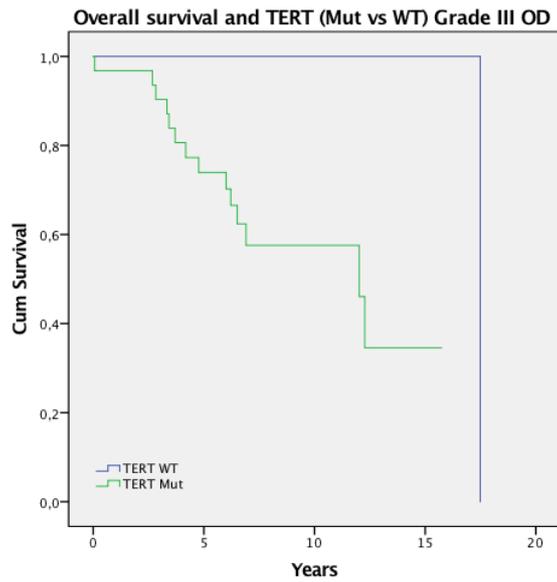
- No se ha visto relación entre SG y el tipo de mutación de IDH por HRM
p=0.271



- No se ha visto relación estadísticamente significativa para supervivencia global para los pacientes con mutación IDH R132H frente al resto. P=0.204



- No se ha visto relación estadísticamente significativa entre SG y TERT (Mut vs WT)
- TERT WT mediana de supervivencia 17.49 años (no IC)
- TERT mut mediana de supervivencia 12-014 años (IC 95% 6.15-17.87)
- p=0.322



No se encontró relación estadísticamente significativa entre tipo mut de TERT y SG:

- WT mediana de SG 17.49 (no IC)
- Mut 250 T 12.01 mediana de SG (0-26.56)
- Mut C228T no datos

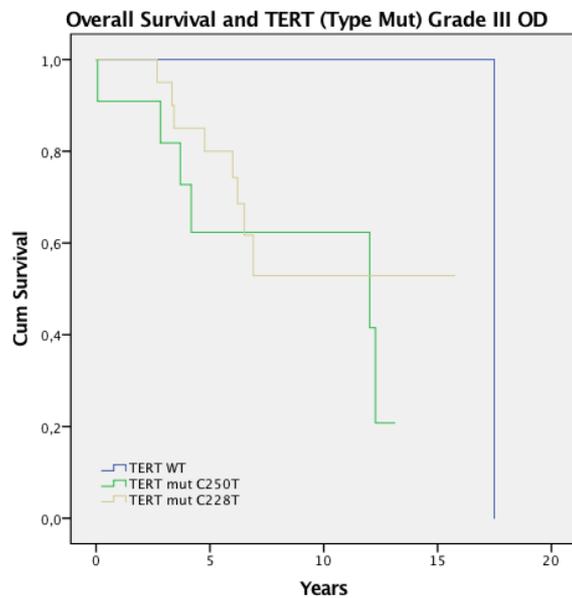


Tabla resumen

	IDH1 %	IDH2 %	TERT mut%	TERT C250 %	TERT C228 %
Cohorte total	90.1	9.9	88	36.3	51.6
Oligos GII	88.1	11.9	83	37.3	45.8
Oligos GIII	93.8	6.3	96.5	34.4	62.5

4.3.3. Análisis de la vía de las ciclinas en la cohorte reclasificada.

4.3.3.1. Expresión de p16 por IHQ. Expresión de p16 en el total de la muestra.

4.3.3.2. Expresión de p16 en los oligodendrogliomas grado II.

4.3.3.3. Expresión de p16 en oligodendrogliomas grado III.

4.3.3.4. Analisis multivariante y ausencia de expresión de p16.

4.3.3.5. Sobreexpresión de p16.

4.3.3.6. Expresión de p16 y proliferación microvascular, necrosis y captación de contraste en la RM.

4.3.3.7. Expresión de ciclina D1 por IHQ.

4.3.3.8. Expresión de ciclina D1.

4.3.3.9. Expresión de ciclina D1 y su impacto pronóstico.

4.3.3.10. Expresión de Rb.

4.3.3.1. Expresión de P16 por IHQ en el global de la muestra (incluidos grado II y III)

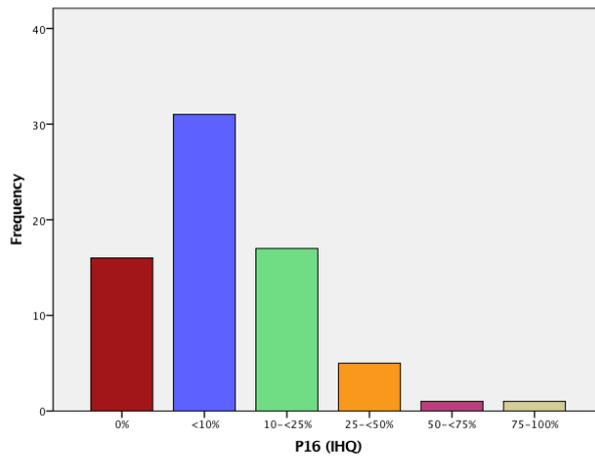
En el total de la serie (71 casos analizados), la expresión de p16 encontrada fue:

- No se detectó expresión: 16 casos (22.5%)
- Sí se ha detectado expresión de p16: 55 casos (77.5%)
- No datos: 20 casos: no se analizaron por problemas técnicos relacionados con el tissue array.

Nivel de expresión de p16:

- Ausencia de expression 16 casos (22.5%)
- Expresión <10%: 31 casos (43.7%)
- Expresión 10-<25%: 17 casos (23.9%)

- Expresión entre 25-<50%: 5 casos (7%)
- Expresión entre 50-<75%: 1 caso (1.4%)
- Expresión entre 75-100%: 1 caso (1.4%)

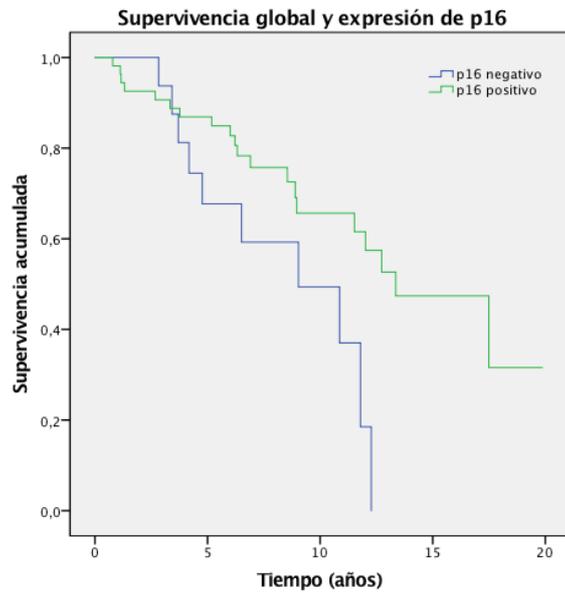


La ausencia de expresión de p16 se relaciona de forma negativa con el pronóstico y es estadísticamente significativo.

- Mediana de supervivencia global en ausencia de p16: 9.03 años (IC 95% 3.6-14.47)
- Mediana de supervivencia en presencia de p16: 13.35 años (IC 95% 9.36-17.35)

P=0.023

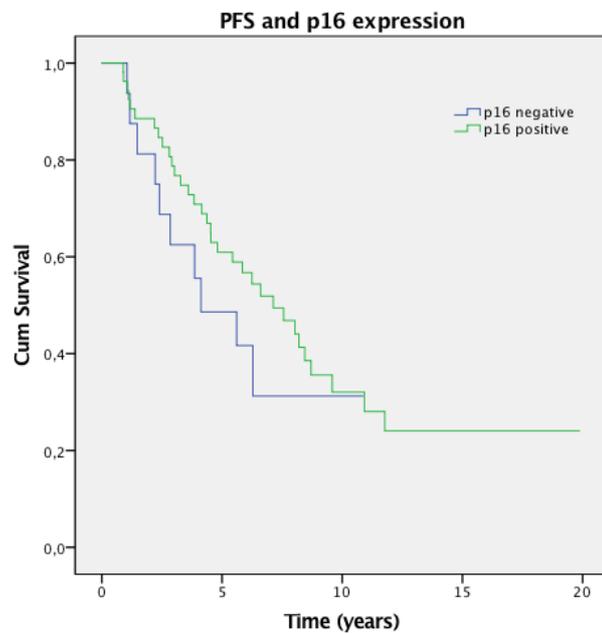
HR= 0.41



No se ha visto impacto en SLP de forma estadísticamente significativa:

- Mediana de SLP en ausencia de p16: 4.12 años (0.96-7.28)
- Mediana de SLP en presencia de p16: 7.13 años (4.67-9.59)

p=0.35



4.3.3.2. Expresión de p16 y oligodendroglioma grado II:

1) Expresión de p16 en oligodendroglioma grado II (43 casos analizados)

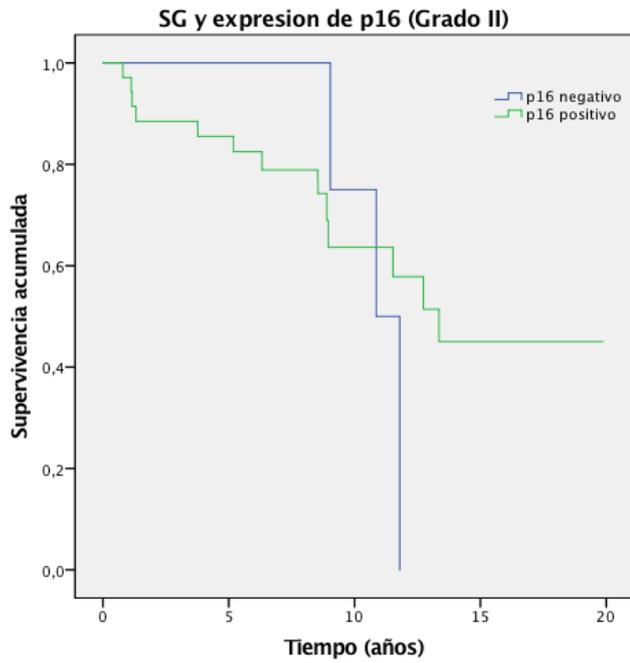
- Ausencia de expresión de p16 en oligodendrogliomas grado II se ha observado en 7 casos (16.3%)
- Presencia de la expresión en oligodendrogliomas grado II en 36 casos (83.7%)

Niveles de expresión de p16 en oligodendrogliomas grado II:

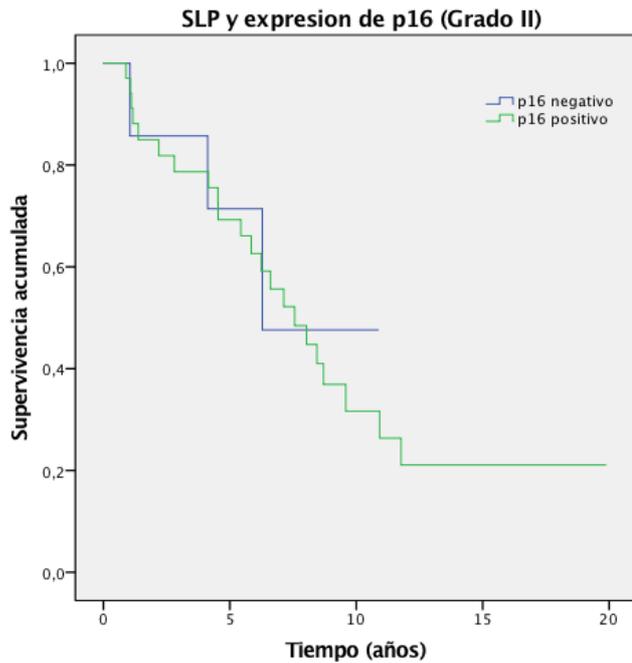
- Ausencia de expresión 7 casos (16.3%)
- Expresión <10%: 24 casos (55.8%)
- Expresión 10-<25%: 10 casos (23.3%)
- Expresión entre 25-<50%: 2 casos (4.7%)
- Expresión entre 50-<75%: 0 casos
- Expresión entre 75-100%: 0 casos

2) La ausencia de expresión de p16 no guarda relación significativa con la SG:

- La mediana de supervivencia global para los que no expresan p16: 10.86 años (IC95% 9.05-12.66)
- La mediana de supervivencia para los que expresan p16: 13.35 años (IC95% 10.15-16.56)
- P=0.754



- 2) La ausencia de expresión de p16 no se asocia de forma estadísticamente significativa con la SLP:
- SLP en ausencia de expresión de p16: 6.28 años (no IC)
 - SLP en presencia de expresión de p16: 7.55 años (IC95% 5.22-9.89)
 - P=0.812



4.3.3.3. Expresión de p16 por IHQ en pacientes con oligodendroglioma grado III:

1) Expresión de p16 en oligodendrogliomas grado III (28 casos analizados):

- Ausencia de expresión de p16 en 9 casos (32.1%)
- Presencia de expresión de p16 en 19 casos (67.9%)

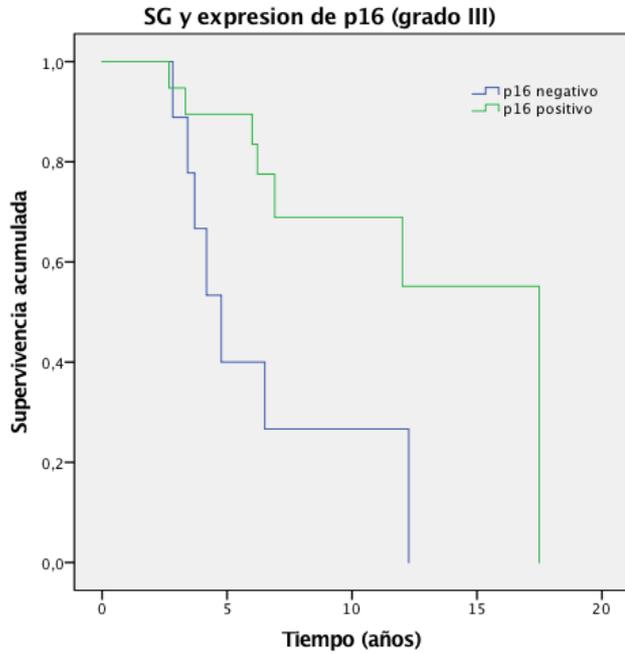
Niveles de expresión de p16 en oligodendrogliomas grado III:

- Ausencia de expresión p16: 9 casos (32.1%)
- Expresión <10%: 7 casos (25%)
- Expresión 10-<25%: 7 casos (25%)
- Expresión 25-<50%: 3 casos (10.7%)
- Expresión 50-<75%: 1 casos (3.5%)
- Expresión 75%-100%: 1 casos (3.5%)

2) La ausencia de expresión de p16 se relaciona de forma negativa con el pronóstico y es estadísticamente significativo.

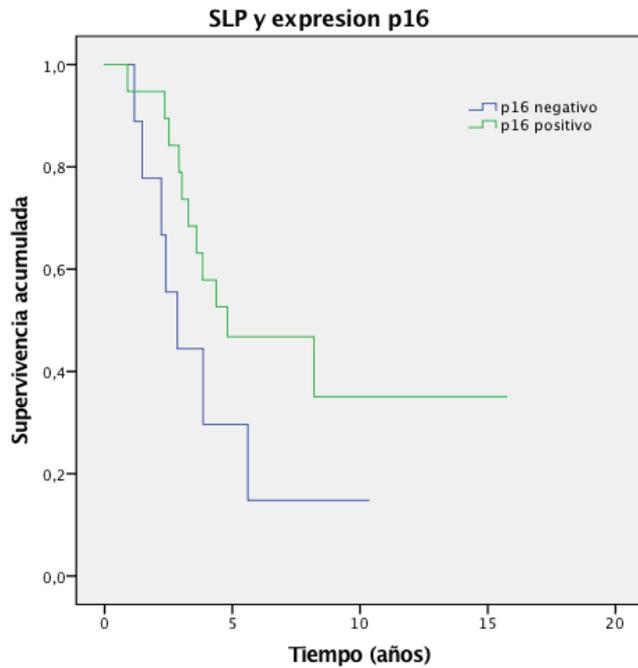
- Mediana de SG en ausencia de p16: 4.76 años (IC 95% 3.40-6.12)

- Mediana de SG en presencia de p16: 17.49 años (IC 95% no alcanzada)
- P=0.010



No se ha visto impacto de la expresión de p16 en SLP de forma estadísticamente significativo:

- Mediana de SLP en ausencia de p16 es de 2.84 años (IC 95% 1.52-4.17)
- Mediana de SLP en presencia de p16 es de 4.80 años (IC95% 0.46-0.14)
- P=0.114



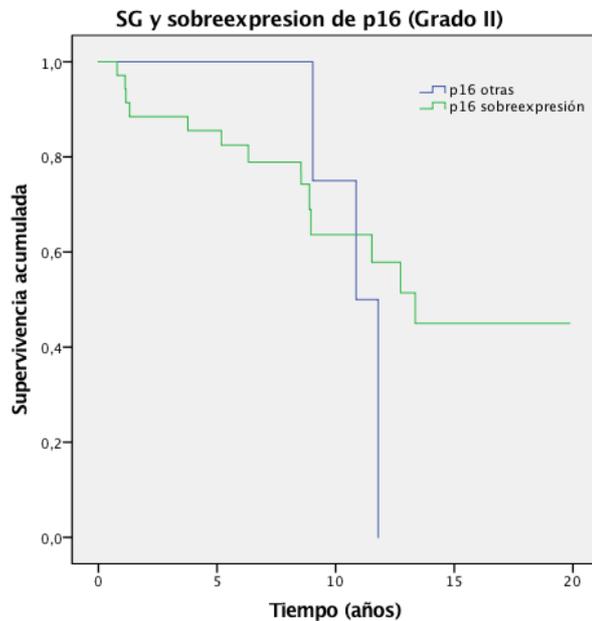
4.3.3.4. Analisis multivariante y ausencia de expresión de p16

También se ha realizado un análisis multivariante en el que se han incluido factores como extensión de la cirugía, grado tumoral, recibir tratamiento adyuvante y ausencia de expresión de p16. Solo la ausencia de expresión de p16 tuvo un valor pronóstico que alcanzó la significación estadística $p=0.034$

4.3.3.5 Grado de sobreexpresión de p16

Se ha analizado la situación de sobreexpresión de p16, considerándose como alta expresión si había un 25% o mayor. Se ha analizado en oligodendrogliomas de grado II ya que se han comunicado datos en este sentido por otros autores:

- SG en oligodendroglioma grado II según la presencia de sobreexpresión de p16:
 - mediana de supervivencia global para sobreexpresión de p16 de 25% o mayor 13.35 (IC95% 10.15-16.56)
 - mediana de supervivencia global para otras situaciones de p16 de 10.86 (IC95% 9.05-12.66)
 - $p=0.75$



4.3.3.6. Expresión de p16 y proliferación microvascular, necrosis y captación de contraste en la RM

Estos datos se han analizado en los oligodendrogliomas anaplásicos (grado III).

Se ha analizado la correlación entre la pérdida de expresión de p16 y la presencia de proliferación microvascular en los oligodendrogliomas anaplásicos. No se ha encontrado una relación estadísticamente significativa: Chi2 0.802.

Sin embargo, hay que destacar que, en 9 casos teníamos teníamos datos anatomopatológicos de la proliferación microvascular y tenían pérdida de expresión de p16, y en el 88% tenían proliferación microvascular (8 casos), solo en 1 caso no había proliferación microvascular.

En nuestra muestra, un total de 23 casos (85%) de los oligodendrogliomas anaplásico tenían proliferación microvascular.

En cuanto a la necrosis, no se ha encontrado una relación estadísticamente significativa con la pérdida de expresión de p16: Chi2 0.175.

En cuanto a la captación de contraste en la RM en los oligodendrogliomas anaplásicos en los que había datos disponibles, tampoco se ha encontrado una correlación estadísticamente significativa con la pérdida de expresión de 16: Chi2 0.668.

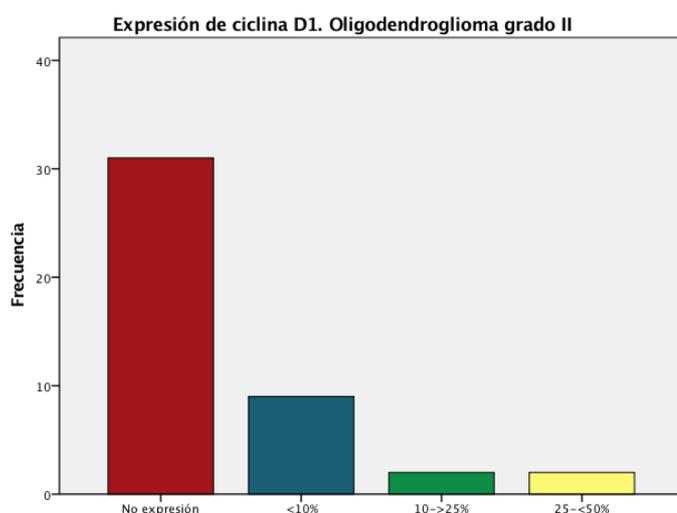
4.3.3.7. Expresión de ciclina D1

En el total de la cohorte reclasificada, la expresión de ciclina D1 fue:

- Expresión ciclina D1 (72 casos analizados)
 - 0% en 40 casos (55.5%)
 - Expresión 0-<10% en 18 casos (25%)
 - Expresión de 10-<25% en 8 casos (11.1%)
 - Expresión de 25-<50% en 5 casos (6.94%)
 - Expresión de 50-<75% en 1 caso (1.4%)

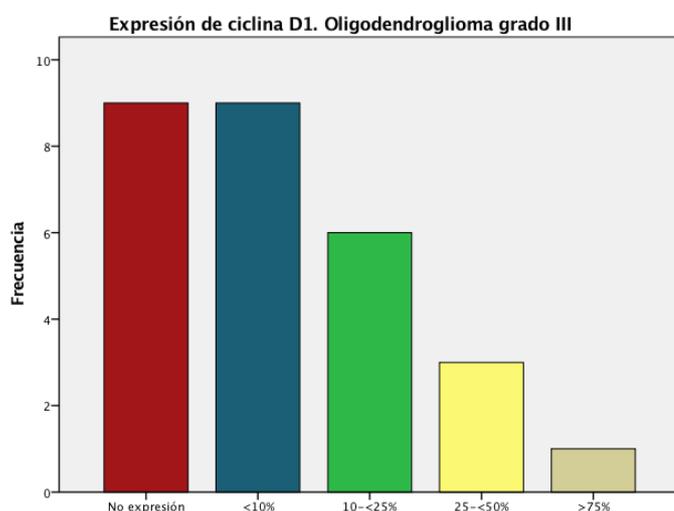
En oligodendrogliomas de grado II (42 casos analizados) la expresión ha sido de:

- No expresión en 30 casos (71.4%)
- Expresión <10% en 8 casos (19%)
- Expresión 10-<25% en 2 casos (3.4%)
- Expresión 25-<50% en 2 casos (3.4%)
- Expresión >50% → 0 casos



En los oligodendrogliomas de grado III la expresión de ciclina D1 (analizado en 28 casos):

- No expresión en 9 casos (32.1%)
- Expresión <10% en 9 casos (32.1%)
- Expresión 10-<25% en 6 casos (21.4%)
- Expresión entre 25-<50% en 3 casos (10.7%)
- Expresión entre 50-75% en 1 caso (3.5%)



4.3.3.8. Expresión de ciclina D1 y su impacto pronóstico

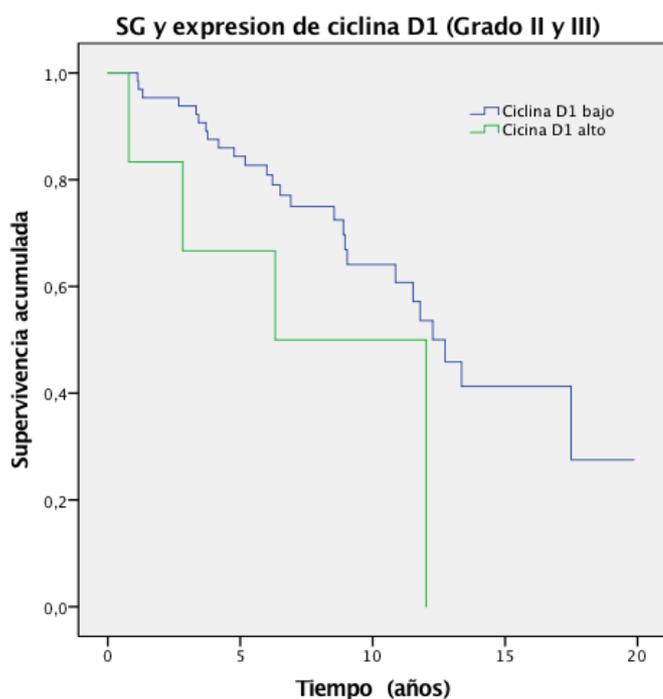
Se analizó el valor pronóstico de ciclina D1. Se consideró para ello la alta expresión de D1 si cumplía el criterio de >25% de expresión.

- En los oligodendrogliomas de grado II se encontró alta expresión en 2 casos (3.4%).
- En oligodendrogliomas anaplásicos se encontró alta expresión de D1 en 4 casos (12.5%).
- Esta diferencia no es estadísticamente significativa.
- Para toda la cohorte la alta expresión de D1 se ha podido encontrar en 6 casos (6.6%).

Al analizar los datos de alta expresión de ciclina D1 y supervivencia se ha podido encontrar una correlación de la alta expresión con supervivencia, que está en el límite de la significación estadística para toda la cohorte.

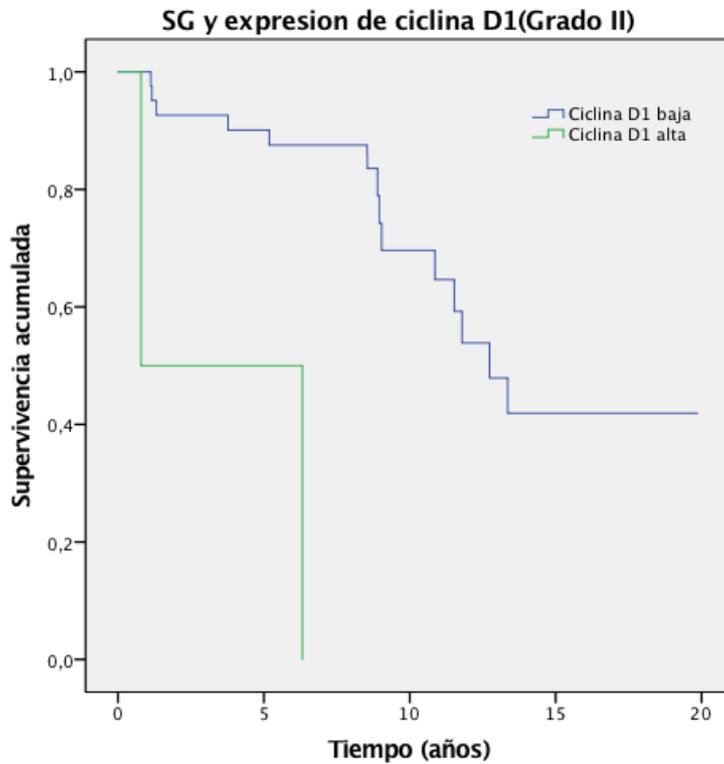
En toda la cohorte:

- Mediana de supervivencia global para bajo grado de expresión de ciclina D1 de 12.73 años (IC 95% 10.79-14.67)
- Mediana de supervivencia global para alto grado de expresión de ciclina D1 de 6.31 años (IC95% 0.80-11.83)
- P=0.054



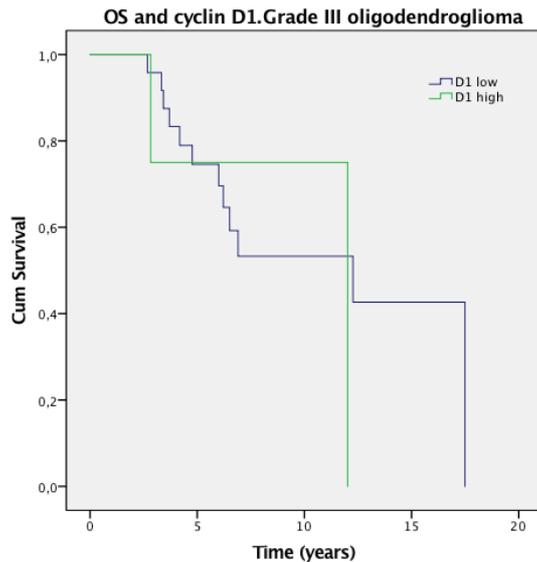
Para los oligodendrogliomas grado II la alta expresión de ciclina D1 se asoció con disminución de la SG de forma significativa:

- Mediana de SG para baja expresión de 12.73 años (IC95% 10.44-15.01)
- Mediana de SG para alta expresión de 0.78 años
- P=0.000



En oligodendrogliomas de grado III, no hubo diferencias estadísticamente significativas para alta expresión de ciclina D1 y supervivencia global.

- La mediana de supervivencia global fue de 12.27 años para alta expresión de D1 (IC95% 3.39-21.14)
- Mediana de SG para baja expresión de D1 fue 12.01 años (no IC)
- P=0. 786



4.3.3.9. Expresión de Rb.

Se ha analizado por inmunohistoquímica la expresión de Rb. Se analizaron un total de 80 casos. En 5 casos del total no se encontró expresión por IHQ (6.2%), en el resto había expresión de Rb. Resultó positivo por IHQ en 75 casos (93.8%).

De esos 5 casos, en 3 casos oligodendroglioma grado II y en 2 casos fueron oligodendrogliomas grado III.

En uno de los casos, se trataba de un oligodendroglioma de grado II, tenía codeleción de 1p/19q, mutación en IDH1, mutación de TERT y no tenían datos de p16 ni ciclina D1.

El segundo caso, también un oligodendroglioma grado II, tenía codeleción de 1p/19q, mutación de IDH1, mutación de TERT. No expresión de p16 ni ciclina D1.

El caso número 3, oligodendroglioma grado II, con codeleción de 1p/19q, mutación de IDH1, mutación de TERT, expresión de p16 y no expresión de ciclina D1.

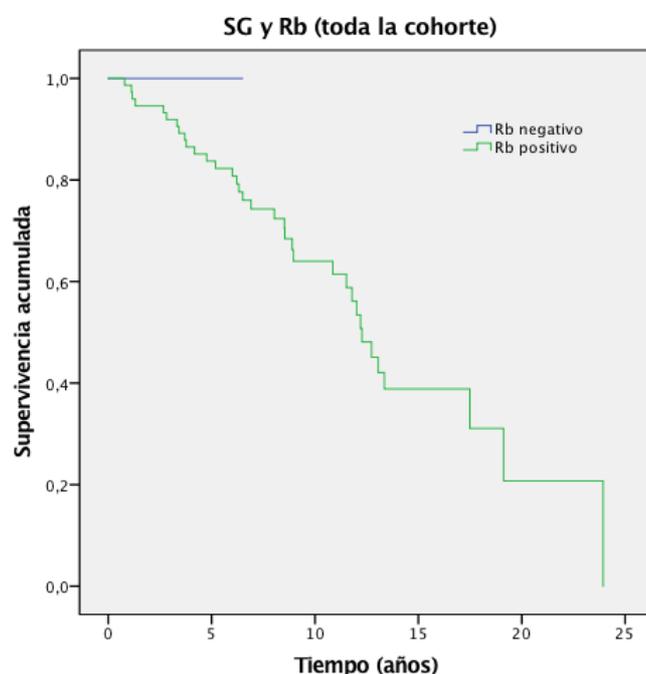
El caso número 4 se trata de un oligodendroglioma anaplásico, con codeleción de 1p/19q, mutación de IDH1, mutación de TERT, expresión de p16 y ausencia de expresión de ciclina D1.

El caso número 5 se trata de un oligodendroglioma anaplásico, con codeleción de 1p/19q, mutación de IDH1, mutación de TERT, expresión de p16 y expresión de ciclina D1.

La mediana de SLP y de SG en estos pacientes no ha sido alcanzada.

Debido al escaso número de casos no se ha podido sacar conclusiones respecto a su valor pronóstico.

- En oligodendrogliomas de grado II no se ha encontrado una relación estadísticamente significativa entre mediana de SG y Rb positivo o negativo $p=0.57$.
- En oligodendrogliomas de grado III, no se ha visto relación estadísticamente positiva entre SG y expresión de Rb por IHQ. $P=0.338$



5.DISCUSIÓN

5.1. Discusión de los datos clínicos de la cohorte inicial

5.2. Discusión de los datos clínicos de la cohorte tras aplicar los criterios moleculares de la OMS 2016.

Cohorte reclasificada:

5.2.1. Características clínicas de la cohorte global por criterios de la OMS 2016.

5.2.2. Primera progresión: Características, tratamiento y evolución.

5.2.3. Comparación de los datos clínicos de la cohorte y la cohorte reclasificada

- 5.2.4. Reclasificación de los tumores considerados como oligoastrocitomas en la clasificación anterior a 2016.**
- 5.2.5. Discusión de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado II en la cohorte reclasificada.**
- 5.2.6. Discusión de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado III en la cohorte reclasificada.**
- 5.3. Discusión de los datos moleculares de la cohorte tras aplicar los criterios de la OMS de 2016.**
 - Cohorte reclasificada:**
 - 5.3.1. Discusión del proceso de reclasificación según los criterios de la OMS 2016**
 - 5.3.2. Discusión de los datos moleculares de la cohorte reclasificada.**
 - 5.3.3. Discusión de los datos de la vía de las ciclinas en la cohorte reclasificada.**

5.1. Discusión de los datos clínicos de la cohorte inicial

Los oligodendrogliomas son tumores del SNC poco frecuentes, suponiendo el oligodendroglioma el 3% y el oligodendroglioma anaplásico el 1.5% de los tumores primarios malignos cerebrales ^[100] ^[101].

En nuestra serie hemos podido identificar 182 casos (diagnosticados por criterios morfológicos). Estos datos permiten constatar la baja frecuencia descrita de estos tumores, ya que en 37 años que se han revisado en este estudio (de 1977 a 2014), se han tratado 182 casos en dos hospitales terciarios de Madrid, lo que corresponde a unos 5 casos de nuevo diagnóstico al año. Por hospital, en el hospital Universitario 12 de Octubre se han identificado 114 casos en este periodo de tiempo, lo que corresponde a 3 casos al año y en el hospital Universitario Ramón y Cajal, 68 casos, lo que correspondería a 1.8 casos al año.

Asimismo, en nuestra serie hemos observado que la incidencia de oligodendrogliomas de grado II es mayor que los oligodendrogliomas de grado III, de acuerdo a lo descrito previamente en la literatura ^[100] ^[102].

En esta cohorte inicial hemos podido confirmar que estos tumores son más frecuentes en varones (un 60% de los casos) y la mediana de edad fue de 44.8 años, en línea con lo publicado previamente ^[103] ^[102].

En cuanto a la entidad de los oligoastrocitomas (caracterizados por la presencia de características histológicas astrocitarias y oligodendrogiales), en nuestra serie, corresponde a un 22% del total de casos. Estas cifras se correlacionan con las encontradas en otras publicaciones ^[104].

La localización predominante en nuestra serie fue en el lóbulo frontal en un 60 % de los casos, seguido del lóbulo temporal y parietal, también coincidiendo con los datos descritos previamente ^[102].

Esta distribución por sexos, edad y localización se ha mantenido tanto en los oligodendrogliomas de grado II como grado III.

En relación al tratamiento, la cirugía se considera el procedimiento terapéutico inicial. El comportamiento invasivo de estos tumores y su localización en áreas elocuentes van a condicionar en muchas ocasiones la extensión de la cirugía. En nuestra cohorte hay un porcentaje de resección completa de un 47% de los casos y un procedimiento basado en sólo biopsia en 7% de los casos. Más adelante se discutirán estos datos por categorías según el grado tumoral.

Tras la cirugía, mitad de los pacientes han recibido RT y 32% han recibido quimioterapia.

Esto remarca la evolución a lo largo de los años, con una situación cambiante en cuanto a las recomendaciones de tratamiento postoperatorio según los resultados de las diferentes publicaciones.

Otros autores han aportado datos similares sobre los tratamientos en oligodendrogliomas. Shieie et al han descrito cifras de resección completa en un 44% de los casos y biopsia en un 13%. En esta serie de casos de Shieie et al se había administrado quimioterapia adyuvante en un 45% de los pacientes y radioterapia en un 26% ^[102]. Sin embargo, otras publicaciones recogen diferentes cifras en cuanto a la extensión de la cirugía y los tratamientos postoperatorios.

Por otra parte, la determinación molecular de la delección de 1p/19q, se realizó con carácter asistencial en aproximadamente la mitad de los casos. Hay que tener en cuenta que esta serie recoge casos muy antiguos, incluidos los años 80, donde no había un conocimiento de esta alteración ni su implicación pronóstica o predictiva. Hasta la nueva clasificación de la OMS de 2016 la delección de 1p/19 se realizaba para tener información pronóstica y predictiva, ya que se consideraba que este marcador podía identificar un subgrupo de evolución más favorable y mejor respuesta al tratamiento.

De los casos en los que se realizó la determinación con carácter asistencial, se encontró codelección en un 74% de los casos del total de la cohorte. Publicaciones previas indican la presencia de la codelección en un 55-75% de los casos ^{[84] [105] [102]}.

En esta cohorte inicial, para los oligodendrogliomas de grado II, la mediana de SLP fue de 5.95 años y la supervivencia global de 13.06 años

En los oligodendrogliomas de grado III, la mediana de SLP fue de 4 años y la SG fue de 6 años.

Estos datos refrendan publicaciones previas donde se ha comunicado unas medianas de supervivencia de más de 10 años para los oligodendrogliomas de bajo grado y para los oligodendrogliomas anaplásicos hay un peor pronóstico, con medianas de supervivencia de 4-5 años ^{[106] [107] [108] [101] [60]}.

También el estudio retrospectivo de Lassman (oligodendrogliomas de grado III), aporta información en cuanto a la supervivencia, con una mediana de SG de 6.3 años, en línea también de lo encontrado en nuestro trabajo.

Los estudios randomizados mas recientes también aportan información sobre la supervivencia. En estos estudios, además, los pacientes fueron incluidos sin tener en cuenta criterios moleculares. En los oligodendrogliomas de grado II, la mediana de SG fue de 13 años para la rama de RT seguido de PCV en el estudio RTOG 9802. En el caso de los oligodendrogliomas de grado III, en el estudio de la EORTC el resultado del estudio fue de una mediana de SG de 3.52 años para la rama de RT seguido de PCV (que fue la rama con mejor evolución). En el estudio de la RTOG 9402, la mediana de SG fue de 4.6 años. Solo los datos de una mejor selección

molecular de los casos, analizando 1p/19q e IDH permiten, en estos estudios, permiten hablar de medianas de supervivencia por encima de 10 años.

Por último, el análisis de nuestra serie objetivó una diferencia estadísticamente significativa en la SG entre los pacientes con oligodendroglioma grado II y grado III en esta cohorte inicial clasificada por criterios morfológicos. Estos datos están en consonancia con lo publicado en otros trabajos ^[109].

5.2. Discusión de los datos clínicos de la cohorte tras aplicar los criterios moleculares de la OMS 2016. Cohorte reclasificada.

5.2.1. Características clínicas de la cohorte global por criterios de la OMS 2016.

En nuestra cohorte reclasificada, el número total de pacientes ha sido de 91 casos.

Más adelante revisaremos los aspectos de este proceso de reclasificación.

Por lo tanto, podemos mencionar de nuevo la baja incidencia de este tipo de tumor, con 91 casos recogidos en un periodo de tiempo de 37 años, lo que corresponde a una incidencia de 2.5 casos al año.

Hay un predominio de los oligodendrogliomas de grado II (59 casos). El número de oligodendrogliomas de grado III fue de 32 casos.

Al igual que hemos descrito para la cohorte inicial, seguimos viendo que hay un predominio en varones y la mediana de edad fue de 45 años.

En cuanto a los tratamientos recibidos, se consideró resección completa en un 39% de los casos y biopsia sola en un 5.5%.

Tras la cirugía, recibieron tratamiento con radioterapia en un 46% de los casos y quimioterapia en un 32%. Cabría mencionar que no han recibido ningún tipo de tratamiento adyuvante en un 38.5% de los casos.

De nuevo, al igual que en la cohorte inicial, hay que subrayar la situación de cambios en las indicaciones terapéuticas a lo largo de todos los años que abarca el estudio.

En cuanto a la supervivencia, la mediana de supervivencia global para toda la serie (grado II y grado III) fue de 12.73 años.

La mediana de supervivencia global fue de 13.3 años para los casos de oligodendrogliomas de grado II y de 12 años para los oligodendrogliomas de grado III.

Este es un aspecto interesante y llamativo que queremos destacar ya que cuando se compararon estos datos, de la SG entre los oligodendrogliomas grado II y grado III en la cohorte reclasificada, las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Este punto marca una diferencia con lo que habíamos observado en la cohorte inicial, donde sí se había visto una diferencia estadísticamente significativa en la SG entre los tumores de grado II y grado III.

La clasificación molecular, por tanto, modifica el impacto del grado en la supervivencia.

En relación con lo descrito en este sentido en la literatura, históricamente se habían podido observar diferencias más marcadas entre los gliomas de grado II y grado III, pero estudios más recientes indican que las diferencias entre el grado II y III no es tan clara con las situaciones de tumores con estudio molecular de mutación de IDH y codeleción de 1p/19q, tal como hemos podido observar en nuestro estudio ^[110] ^[111].

Es de destacar que no se ha apreciado una diferencia estadísticamente significativa ni en SG ni tampoco en SLP en función del grado tumoral.

Por otra parte, hemos querido revisar si se podría apreciar una diferente evolución para aquellos tumores con diagnóstico morfológico de oligoastrocitoma. No se encontraron diferencias en supervivencia entre ambos grupos. Estos datos los vamos a analizar en un apartado posterior.

5.2.2. Primera progresión: características, tratamiento y evolución.

En el momento de la primera progresión la mayoría de los pacientes recibieron algún tipo de tratamiento (solo un 9% no llegó a recibir ningún tratamiento). Los tratamientos administrados fueron heterogéneos e incluyeron nueva cirugía (en aproximadamente un 20% de los casos), radioterapia y quimioterapia. Esta variedad de tratamientos administrados no permitió sacar conclusiones sobre la mejor opción terapéutica.

La elección de los tratamientos en este momento de la progresión de la enfermedad suele estar ligada a la localización del tumor, así como a los tratamientos recibidos al

inicio de la enfermedad. En el estudio RTOG 9802 también se han comunicado tasas de intervención quirúrgica en torno al 20% en el momento de la primera progresión. Otros autores han publicado series de oligodendrogliomas donde también han comunicado diferentes opciones de tratamiento en el momento de la primera progresión ^[104].

La mediana de supervivencia para toda la cohorte tras la primera progresión fue de 6 años, para los tumores de bajo grado de 7.1 y para los de grado III fue de 3.62 años. Los datos de la evolución también nos indican que la mediana de supervivencia se acorta con cada nueva progresión, de manera que la mediana de supervivencia ha sido de 3 años de la primera a la segunda progresión y de 1.25 años de la segunda a la tercera progresión, en probable relación con una mayor agresividad del tumor y/o una menos respuesta a los tratamientos administrados.

En nuestro estudio, además, hemos analizado las características de agresividad que presentaban en este momento de la primera progresión los oligodendrogliomas de bajo grado en el diagnóstico inicial. Nuestro objetivo ha sido describir la evolución de estos tumores hacia un mayor nivel de agresividad ya que en determinados casos en la evolución de estos casos de bajo grado se produce un aumento del tamaño, pero sin datos de mayor agresividad, pero en otros hay una transformación a mayor malignidad, con captación de contraste en la RM o bien en la anatomía patológica descrita tras la cirugía se aprecian elementos característicos de un cambio a mayor grado tumoral.

Hemos podido constatar un aumento del grado en el momento de primera recaída en un 35.6% de los casos de los 59 casos recogidos como bajo grado inicial. En un 17% de los casos no teníamos este tipo de información dado el carácter retrospectivo del estudio.

Como no todos los casos han tenido progresión, hemos analizado el porcentaje de malignización solo dentro de los casos en que se ha considerado que ha existido una progresión, en esta situación el porcentaje de mayor agresividad en el momento de la progresión ha sido del 54% (21/39 casos). Estos datos están en línea con los publicados en el estudio de la RTOG 9802.

La mediana de tiempo hasta que se producía este aumento de grado fue de 5.11 años.

El tiempo encontrado hasta la transformación en otros estudios que han analizado estos datos fue de 72 meses (6 años), por tanto, en línea con nuestros datos ^[112]. El porcentaje de aumento de grado en la recaída que hemos encontrado en otras publicaciones ha sido de 33% ^[104].

5.2.3. Comparación de los datos clínicos de la cohorte inicial y la cohorte reclasificada.

Tras la reclasificación, hemos podido observar que ambas cohortes, la inicial y la reclasificada mantienen una serie de características clínicas comunes:

- 1) El porcentaje de pacientes de grado II y grado III, que es similar en ambas cohortes
- 2) La distribución por sexo, siendo más prevalente en varones en ambas series.
- 3) La mediana de edad al diagnóstico, en torno a los 44-45 años en ambas series.
- 4) La extensión de la resección, entre un 40-45% se estimó completa y <10% de casos sólo se biopsiaron en ambas series.
- 5) En cuanto a los tratamientos postoperatorios, recibieron RT aproximadamente la mitad de los casos y QT postoperatoria en un tercio de los casos en ambas series.

En cuanto a los datos de supervivencia:

- 1) Para los oligodendrogliomas de bajo grado la mediana de supervivencia global fue en torno a 13 años en ambas cohortes
- 2) Para los oligodendrogliomas de grado III la mediana de supervivencia global fue de 6 años en la cohorte inicial, pero inferior a la mediana de supervivencia en la cohorte reclasificada, que fue de 12 años.

Un aspecto a destacar es que se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la cohorte reclasificada y la cohorte excluida:

La mediana de SG para los pacientes de la cohorte reclasificada fue de 13.35 años y de la cohorte excluida fue de 7.52 años

Estos datos nos indican la importancia de la caracterización molecular de cara a definir el pronóstico de estos pacientes.

En nuestro trabajo no hemos procedido a la caracterización molecular detallada de los de los casos que no cumplían criterios de mutación de IDH y codelección de 1p/19q (cohorte excluida) y es posible que entre estos casos haya diferentes diagnósticos aplicando los criterios actuales de la OMS, algunos de estos casos pudieran incluso cumplir criterios moleculares actuales de glioblastoma,

5.2.4. Reclasificación de los tumores considerados como oligoastrocitomas en la clasificación anterior a 2016

En las clasificaciones previas, los tumores que tenían características histológicas tanto de oligodendrogliomas como de astrocitomas se clasificaban como oligoastrocitomas. Pero estudios más recientes han demostrado que, cuando se aplican criterios moleculares, estos tumores tienen un genotipo oligodendroglioma (con mutación de IDH y codelección de 1p/19q) o bien astrocitario (mutación de IDH, ATRX y p53). En la cohorte inicial hemos encontrado un total de 40 casos con diagnóstico de oligoastrocitoma, lo que corresponde a un total del 22% de los casos (40/182 casos). Tras la reclasificación, 12 casos correspondían a los inicialmente considerados como oligodendroglioma, lo que corresponde a un 13% (12/91 casos).

Si tenemos en cuenta el total de casos inicialmente considerados oligoastrocitoma (40), de esos casos, 12 tenían las características moleculares de oligodendroglioma (mutación de IDH y codelección de 1p/19Q). Esto indica que un 30% de los casos considerados inicialmente oligoastrocitoma se reclasificaron hacia oligodendroglioma porque tenían las características genéticas de oligodendroglioma.

Sahm et al realizaron una reclasificación de una serie de tumores oligoastrocitarios y encontraron que la codelección de 1p/19q y la mutación de ATRX y p53 eran mutuamente excluyentes, confirmando que estos tumores con características histológicas mixtas finalmente se caracterizaban a nivel molecular o bien como oligodendroglioma o bien como astrocitoma ^[113].

Ellos encontraron que en un 72% de los casos inicialmente considerados como oligoastrocitoma tenían características moleculares típicas de oligodendroglioma y en un 25% de astrocitoma.

Nuestras cifras son diferentes, ya que hemos encontrado que sólo un 30% del total de casos de tumores oligoastrocitarios se caracterizaban, desde un punto de vista molecular como oligodendrogliomas.

Hay otras series con resultados más cercanos al nuestro como la publicada por Kim S et al, donde se ha encontrado un 13.7% de casos reclasificados a oligodendroglioma anaplásico ^[114].

Para corroborar esta información hemos realizado una comparación de la evolución de los tumores con características morfológicas de oligodendroglioma y los de oligoastrocitomas una vez reclasificados y todos con las características moleculares de mutación de IDH y codeleción de 1p/19q. La mediana de supervivencia para los considerados inicialmente oligodendrogliomas fue de 12.73 años y de 13.06 para los considerados inicialmente oligoastrocitomas, con una $p=0.699$.

Por lo tanto, estos datos refuerzan el comportamiento biológico similar una vez reclasificados. De todas formas, hay que tener en cuenta que el escaso número con características morfológicas de oligoastrocitoma en esta cohorte reclasificada puede condicionar los resultados obtenidos.

5.2.5 Discusión de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado II en la cohorte reclasificada.

Se han encontrado un total de 59 casos con diagnóstico de oligodendroglioma grado II con las características moleculares definidas por la OMS 2016, con mutación de IDH y codeleción 1p/19q.

La mediana de tiempo de seguimiento para estos pacientes fue de 8.35 años.

Vamos a revisar a continuación nuestros resultados de forma comparativa a los estudios publicados de mayor relevancia, de fase III y fase II, descritos previamente en el apartado de la introducción ^{[74][75] [78] [77]}.

A continuación, exponemos una tabla comparativa de nuestros resultados y de los resultados de los diferentes estudios revisados ya en la introducción para facilitar la discusión de datos posterior:

Estudio	Diseño estudio	Tratamiento	Criterios de inclusión	OS media (años)	PFS mediana	OS %	PFS %	Tiempo seguimiento	Oligos mut/1p/19q
Vaz MA et al	Retrospectivo	-Observar -RT -QT -QT/RT	Oligodendrogliomas/oligoastrocitomas (Grado II/III)	11.97	5.69			8.74 años	SLP 6.28 SG 12.7años
Shaw et al	Fase III (n=203)	RT 50.4Gy vs 64.8Gy	Bajo grado (todos)			72 % vs 85 %		6.43 años	
EORTC 22844	Fase III (n=379)	RT45 Gy vs RT 59.4Gy	Gliomas bajo grado (astro, oligoastro y oligo G2) piloto (15pac)			58 % vs 59 %	47 % vs 50 %	74 meses (6.2 años)	No datos
EORTC 22845	Fase III (n=311)	Observación vs RT 54Gy	Gliomas de bajo grado (astro, oligoastro, oligo y pilocítico con resección incompleta)	ITT: 7.2 vs 7.4 años No piloto: 7.1 vs 7.9 años	ITT: 4.4 años vs 5.3 años No piloto: 3.7 vs 4.4 años	65.7 % vs 68.4 %	5 años vs 35 % vs 55 %	7.8 años	No datos
RTOG9802	Fase III (n=251)	RT (54Gy) vs RT (54Gy) + 6 ciclos de PCV adyuvante	Gliomas de bajo grado y de alto riesgo: resección incompleta y/o edad \geq 40	7.8 años vs 13.3 años HR 0.59 p=0.003	4 años vs 10.4 años HR 0.50 p=0.001	5 años vs 63 % vs 72 %	5 años vs 44 % vs 61 %	11.9 años	
EORTC 22033	Fase III (n=707)	RT (50.4Gy) vs temozolomida	Gliomas de bajo grado con al menos 1 factor de riesgo (edad >40 años, PGR de la enfermedad, tamaño >5 cm, cruza la línea media).	No alcanzada	46 meses RT (3.83 años) y 39 meses temozolomida			48 meses (4 años)	

		(dosis densas)			mida (3.25 años)				
RTOG0424	Fase II (n=129) Comparación con controles históricos	RT (54Gy) con temozolo mida concurren te y secuencial (x12ciclos)	Glimas de bajo grado con 3 factores de alto riesgo (edad 40 años, histología astrocitara, cruza la línea media, diam6cm, neurológico)	No alc	4.5 años	5 años 57.3%	3 años 59.2%		
Wahl M et al. (Neuro Oncol 2017)	Fase II (n=125)	Temozolo mida ciclos mensuales x 12 ciclos	Enfermedad tumoral residual	9.7 años Oligos : 10.8	3.8 años Oligos:4.6 años				
RTOG9802 observacion	Fase II (n=116)	Nada	Gliomas de bajo grado en menores de 40 años con resección completa		5.5 años (grupo desfavorable 4.9)	93%	48%	4.4 años	

Empezando por el tamaño muestral, lo podemos poner en comparación con los principales estudios.

Hay que partir de la base de que, en los principales estudios ya publicados, se incluían los tipos histológicos oligodendrogial, astrocitario y oligoastrocitario, sin selección por criterios moleculares, de acuerdo con los estándares de diagnóstico del momento de realización de esos estudios. En muchos de ellos se ha añadido un estudio molecular posterior a la inclusión de pacientes.

Nuestra cohorte reclasificada se caracteriza por haber aplicado criterios moleculares para el diagnóstico.

En este sentido, a continuación, revisamos los pacientes incluidos en los diferentes estudios que cumplan los criterios diagnósticos moleculares de nuestra cohorte.

En el estudio RTOG9802 se incluyeron un total de 251 pacientes en total. Se analizaron 117 muestras para IDH y encontraron mutación en el 61% de los que recibieron RT y 64% de los que recibieron RT y quimioterapia. Si analizamos los números, podemos ver que en 70 casos (35 casos de los tratados con RT y 36 casos de

los tratados con RT seguido de PCV), se pudo confirmar la mutación de IDH (corresponde a un 60-65% de los casos analizados). Había muestra disponible para detección de 1p/19q en 63 pacientes, por lo que los autores afirman que, con un número tan pequeño de muestras y eventos, no fue posible la realización de un análisis de la evolución de este subgrupo. Dado que parece probable que un porcentaje en torno al 40% pudieran ser pacientes sin mutación de IDH y por tanto posiblemente pacientes con un comportamiento clínico más cercano a un glioma de alto grado, cabría plantearse si esto ha podido impactar en los resultados finales del beneficio del tratamiento, como discutiremos más adelante.

En el estudio EORTC 22033 se incluyeron 477 pacientes. Las mutaciones en IDH fueron realizadas en el estudio en un análisis posterior. La codeleción de 1p/19q se identificó en 117 de 357 tumores (33%). Las mutaciones en IDH se detectaron en 327 de 392 pacientes (83%). En este estudio aproximadamente un 20% no tenían mutación de IDH, con comportamiento, previsiblemente más agresivo.

En el estudio RTOG0424 se incluyeron un total de 129 pacientes. No se comunicaron datos moleculares.

Estos estudios no aportan datos específicos sobre que los casos que cumplen ambos criterios: mutación de IDH y codeleción 1p/19q, si no cada uno de ellos por separado Wahl et al ^[78] incluyeron 120 pacientes, se disponía de tejido en 97 casos y 44 casos (45%), fueron clasificados como codelecionados; IDH estaba mutado en 83 casos (70%). De nuevo vemos que aproximadamente un 30% no tenían mutación de IDH y en la mitad de los casos no tenían codeleción en 1p/19q, por lo que aproximadamente la mitad de los pacientes no cumplirían los criterios de la OMS 2016 de oligodendroglioma (44 casos).

De los estudios más iniciales, en los que se planteaban cuestiones relacionadas con las dosis y momento de administración de la radioterapia: se incluyeron en el EORTC 22844 un total de 379 pacientes a los que no se realizó estudio molecular y en el estudio EORTC 22845 se incluyeron 311 pacientes y tampoco se realizó estudio molecular.

Por tanto, nuestro tamaño muestral es más pequeño que los estudios descritos, pero cuando analizamos por criterios moleculares, el tamaño muestral de nuestra cohorte vemos que adquiere una mayor importancia al ser una cohorte muy bien caracterizada por criterios moleculares y en los que no disponemos de una información tan

específica y de larga evolución en cuanto a datos clínicos y terapéuticos. En los estudios previos se han incluido hasta un 40% de casos sin mutación en IDH (RTOG9802), un 20% IDH WT en EORTC 22033 y en el estudio de Wahl y colb 44 casos se pudo verificar que estaban codeleccionados. Otros estudios no aportan información molecular.

En cuanto a la edad, la mediana de edad al diagnóstico en nuestra muestra fue de 44.59 años (22-75 años). Comparativamente, fue de 40 años en el estudio RTOG9802, de 43 o 45 años (según la rama) en el estudio EORTC22033, de 49 años en el estudio RTOG0424, de 39 años en el de Wahl. Por lo tanto, la mediana de edad de nuestro estudio es similar a lo descrito en la literatura.

En nuestra muestra se puede observar que este tipo de tumores es más frecuente en varones (66%). Esto concuerda también con lo descrito en la literatura.

En cuanto a la extensión de la cirugía, en nuestra muestra fue de solo biopsia en 6.8% de los casos, resección parcial en 28.8%, resección subtotal en 25.4% y completa en 35.6% de los casos. En el estudio de la RTOG9802, el porcentaje de biopsia fue mayor (47-48% según la rama de tratamiento), y el de resección completa fue menor (en torno a 10%). En el estudio de la EORTC 22033 también fue mayor el porcentaje de biopsias (40%) y menor el porcentaje de resecciones completas (15-19%).

Para interpretar estas diferencias, hay que tener en cuenta que estos datos se han extraído de información recogida en las historias clínicas, y no se ha realizado una revisión centralizada de las imágenes postoperatorias por lo que puede haber un sesgo en la información recogida en cuanto a la extensión de la resección al tratarse además de un estudio retrospectivo.

Por otra parte, los estudios de fase III con los que estamos realizando la comparación son estudios multicéntricos y en nuestra cohorte estamos analizando solo dos hospitales, donde puede haber una mayor homogeneidad en cuanto a las indicaciones y técnicas quirúrgicas.

En nuestra cohorte, se ha podido observar que la extensión de la cirugía se asocia a una mayor supervivencia (SLP y SG) para los pacientes con resección completa, pero sin alcanzar la significación estadística. La mediana de supervivencia global fue de 13 años para resección no completa frente a 23 años en los casos con resección completa.

Los datos de supervivencia fueron similares en SLP y SG en los casos con resección subtotal y parcial. Los pacientes en los que el procedimiento fue solo una biopsia tuvieron peor evolución, con mediana de SG de 6 años frente a 23 años en los casos con resección completa.

En una revisión sistemática publicada en el año 2015 sobre la extensión de la cirugía, los autores consideraron que existía un impacto en SLP y que existe un nivel de evidencia II para recomendar una cirugía basada en resección total o subtotal en vez de biopsia, siempre que sea posible y, además, también encontraron un impacto de la extensión de la cirugía en la supervivencia global, con un nivel de evidencia III ^[54]. Hay que tener en cuenta las limitaciones de nuestra serie, al tratarse de una cohorte retrospectiva y con un número no muy elevado de pacientes.

En cuanto a la supervivencia, la mediana de SLP en nuestra cohorte reclasificada, ha sido de 7.13 años y la supervivencia global ha sido de 13.35 años.

Vamos a comparar a continuación con las principales publicaciones en estos tumores, entre los que están el estudio RTOG9802 y EORTC22033.

1) El estudio RTOG 9802, que dividió los pacientes en alto riesgo y bajo riesgo. Para los de bajo riesgo se realizó un seguimiento y los de alto riesgo fueron randomizados a recibir RT o RT seguido de PCV. Fue un estudio positivo para la rama de tratamiento combinado. El bajo riesgo se definió para pacientes con <40 años y resección completa.

Estudio	Diseño estudio	Tratamiento	Criterios de inclusión	OS mediana (años)	PFS mediana	Tiempo seguimiento	Oligos IDH mut/1p/19q
Vaz MA et al	Retrospectivo	Observación - RT -QT QT/RT	Oligodendrogliomas/oligoastrocitomas (Grado II/III)	11.97	5.69	8.74 años	SLP 6.28 SG 12.7años
RTOG9802	Fase III (n=251)	RT (54Gy) vs RT	GBG de alto riesgo: resección incompleta y/o edad \geq 40	7.8 años vs 13.3 años	4 años vs 10.4 años	11.9 años	

		(54Gy) + 6 ciclos de PCV adyuvante		HR 0.59 p=0.003	HR 0.50 p=0.001		
RTOG9802 observación	Fase II (n=116)	Nada	GBG en menores de 40 años con resección completa		5.5 años (grupo desfavorable 4.9)	4.4 años	

1.1. En relación con los resultados del estudio RTOG9802, para los pacientes considerados de alto riesgo, en nuestra cohorte reclasificada encontramos similares resultados a la rama del estudio considerada de alto riesgo y tratamiento con RT seguido de PCV (en este caso la SLP fue de 10.4 años y la SG fue de 13.3 años) y mejora los resultados de forma clara respecto a la rama tratada sólo con RT (cuyos resultados fueron de SLP de 4 años y SG de 7.8 años).

Teniendo en cuenta estos resultados, los datos de nuestra serie resultan de una SLP y SG cercana a la rama de tratamiento concurrente, pero que señalar que, en nuestra muestra, sin embargo, solo un 10% recibieron quimio-radioterapia y el 50% no recibieron tratamiento adyuvante.

Sin embargo, hay varias consideraciones a tener en cuenta:

a) La población del estudio RTOG9802 incluyó distintos tipos histológicos y no seleccionados por criterios moleculares:

Se incluyeron oligodendrogliomas, astrocitomas y oligoastrocitomas. Los oligodendrogliomas eran un 40-45% del total.

De los pacientes analizados un 61-65% según la rama, tenían mutación de IDH. Esto explicaría las cifras favorables en nuestra cohorte, seleccionada para tumores de tipo histológico oligodendroglioma, asociado habitualmente a un mejor pronóstico mientras que en el estudio de la RTOG9802 quedaron incluidos casos de tipo astrocitario

También en nuestra cohorte había criterios de selección por mutación de IDH mientras que en el estudio RTOG9802 se incluyeron casos con IDH no mutado

(35-40%), cuya evolución clínica puede ser más cercana a otros tumores más agresivos (tipo glioblastoma).

Si miramos más concretamente los datos para aquellos pacientes del estudio RTOG 9802 con tipo histológico oligodendroglioma, la mediana de SLP y SG no ha sido alcanzada con el tiempo de seguimiento. Y para los casos dentro del estudio que cumplen las características de mutación de IDH (71 casos), la mediana de SG fue de unos 10 años para la rama de RT sola y no alcanzada para la rama de RT-PCV.

Este estudio no aporta datos sobre la delección de 1p/19q.

Por tanto, los resultados del estudio de la RTOG9802 son positivos para la rama con tratamiento combinado para una población no seleccionada por tipos histológicos ni por criterios moleculares, quedaría pendiente de conocer si son extrapolables a una población bien caracterizada molecularmente, donde los datos parecen apuntar a una mejor supervivencia incluso en el contexto de tratamientos menos intensivos.

- a) Por otra parte, nuestra cohorte es heterogénea en cuanto al tratamiento postoperatorio recibido: No han recibido tratamiento adyuvante tras la cirugía el 49,2% de los casos (29 casos) y han recibido algún tipo de tratamiento postquirúrgico en un 50.8% (30 casos). Recibieron radio-quimioterapia postoperatoria en 6 casos (10%). Hay que tener en cuenta que se trata de tumores de grado II y es una serie con casos diagnosticados desde el año 77, por lo que las recomendaciones de tratamiento tras la cirugía han cambiado a lo largo del tiempo. En este sentido, nuestra serie, a pesar de recibir un tratamiento menos intensivo (un 50% de los casos no recibe tratamiento adyuvante), los resultados alcanzados son similares a los tratados de manera más intensiva en el estudio RTOG9802. De nuevo, consideramos que esto está relacionado con la importancia pronóstica de la selección de los casos en nuestra cohorte teniendo en cuenta el análisis molecular de 1p/19q e IDH. Cabría destacar la importancia de los factores que puedan indicar cuáles aquellos pacientes que puedan tener peor pronóstico para seleccionar las situaciones donde sea más claro el balance riesgo/beneficio o se pueda plantear un seguimiento.

- b) Es de destacar que en nuestra muestra el 79% de los casos cumple los criterios clínicos de alto riesgo del estudio RTOG9802 (mayores de 40 años o cirugía no completa). Por lo tanto, aunque este no ha sido un criterio de selección, la mayoría de la muestra estaría en el grupo de alto riesgo.
- c) Por otra parte, podemos ver que en nuestra cohorte los resultados para aquellos pacientes tratados con radio-quimioterapia son de una mediana de SLP y SG no alcanzada. Estas cifras son superiores a las obtenidas con otras opciones terapéuticas, aunque sin alcanzar la significación estadística (radioterapia sola 17.39 años, quimioterapia sola 8.89 años, ningún tipo de tratamiento adyuvante 12.73 años). Haber recibido quimio-radioterapia supone mejoría respecto al conjunto de todas las otras opciones de tratamiento.
- d) Es de destacar la evolución de los pacientes que no reciben ningún tipo de tratamiento adyuvante, ya que su mediana de supervivencia no es estadísticamente inferior a los que reciben tratamiento. Todo ello en el contexto de una muestra donde cumplen criterios de alto riesgo (con criterios clínicos), un 79% de los casos.

De nuevo, esto nos hace reflexionar sobre el impacto pronóstico de la caracterización molecular y sobre cómo ello puede influir en las recomendaciones terapéuticas. En una cohorte, caracterizada a nivel molecular, puede tener un beneficio menos claro de un tratamiento intensivo y sería útil seleccionar aquellos casos a los que podría establecerse una indicación de sólo seguimiento.

1.2. Del estudio de la RTOG 9802 se hizo un seguimiento para aquellos que fueron considerados de bajo riesgo (al tener <40 años y resección completa). Eran 111 casos. Encontraron una mediana de SLP de 4.9 años. A su vez 3 factores resultaron pronósticos en este estudio: diámetro preoperatorio ≥ 4 cm, tipo histológico astrocitoma/oligoastrocitoma y tumor residual en imagen ≥ 1 cm.

En nuestra cohorte reclasificada también hemos querido analizar aquellos casos con las mismas características que en el estudio de la RTOG9802.

Para ello, hemos identificado los pacientes eran de alto riesgo y de bajo riesgo según las condiciones de la RTOG9802 (edad, $>0 < 40$ años y extensión de la resección,

completa o no). Por otra parte, hemos querido analizar, al igual que en el estudio de la RTOG9802, la evolución que tuvieron en los casos sin tratamiento postoperatorio.

Hemos encontrado una serie de 8 casos con criterio de bajo riesgo (<40 años con resección completa). La mediana de SLP fue de 6.19 años (IC95% 4,18-8,21). La SG no había sido alcanzada.

Esto confirma la limitación de los criterios clínicos para la clasificación del riesgo:

De hecho, en estos casos que no recibieron tratamiento postoperatorio, la mediana de SLP para los pacientes de grado II y bajo riesgo fue de 6.19 años (IC95% 4,18-8,21) y para los considerados de alto riesgo fue de 8.44 años (IC95% 1.92-14.96). La mediana de SG fue de 12.73 (IC 9.4-16.05) para los de alto riesgo y no alcanzada para lo de bajo riesgo. De nuevo podemos observar que los criterios clínicos pueden no ser suficientes para las decisiones terapéuticas.

Por otro lado, hemos analizado la evolución de aquellos pacientes considerados de alto riesgo (>40 años o resección incompleta) y que no hayan recibido tratamiento adyuvante. Hemos encontrado un total de 20 casos.

La mediana de SLP para los pacientes con oligodendroglioma de bajo grado y alto riesgo que no han recibido tratamiento adyuvante fue de 8.44 años (IC95% 1.92-14.96) y la SG fue de 12.73 (IC 9.4-16.05). Recordamos aquí que estos datos para el total de la cohorte fueron de una SLP de 7.13 años y la SG de 13.3 años.

Por tanto, podemos ver un buen pronóstico incluso si analizamos los pacientes con alto riesgo y no recibir tratamiento adyuvante.

Estos datos pueden indicar que los datos clínicos para identificar el grupo de riesgo pueden tener un valor más limitado y que es posible que en este momento, en el que se dispone de los datos moleculares, estos pueden tener un papel más relevante, y necesitamos estudios para confirmar estos datos y su aplicabilidad en la práctica clínica y consecuentemente en el diseño de ensayos clínicos.

Al ser una serie retrospectiva no hemos podido disponer de datos para analizar los otros factores pronósticos indicados, como tamaño preoperatorio o lesión residual postquirúrgica.

2) Vamos discutir también nuestros resultados en relación al estudio de la EORTC 22033, este estudio estaba diseñado para comparar los tratamientos de RT y QT en monoterapia.

Estudio	Diseño estudio	Tratamiento	Criterios de inclusión	OS mediana (años)	PFS mediana	Tiempo seguim	Oligos IDH mut/1p/19q
Vaz MA et al	Retrospectivo	Observacion - RT -QT QT/RT	Oligodendrogliomas/oligoastrocitomas (Grado II/III)	11.97	5.69	8.74 años	SLP 6.28 SG 12.7 años
EORTC 22033	Fase III (n=707)	RT (50.4Gy) vs temodal (dosis densas)	GBG con al menos 1 factor de riesgo (edad >40 años, PGR de la enfermedad, tamaño >5 cm, cruza la línea media)	No alcanzada	46 meses RT (3.83 años) y 39 meses temozolomida (3.25 años)	48 meses (4 años)	

En nuestra cohorte, la SLP es superior a los pacientes tratados en monoterapia (o radio o quimioterapia), 6.24/6.60 años frente a 3.83/3.25 en el estudio EORTC 22033. El estudio EORTC 22033 no aportaba datos de SG ya que esta todavía no había sido alcanzada.

Consideraciones a tener en cuenta:

a) Para los tratados con quimioterapia sola en nuestro estudio, la SLP fue de 6.6 años y la radioterapia sola de 6.24 años (superior a la encontrada en el EORTC 22033). La SG en nuestro estudio para los tratados con quimioterapia sola fue de 8.89 años y con radioterapia sola fue de 13.06 años. Las diferencias no alcanzan significación estadística.

De nuevo, hay que tener en cuenta que en el estudio EORTC22033 se realizó un estudio molecular y encontraron codeleción de 1p/19q en 33% de los casos e IDH mutado en 83%. Para los pacientes con IDHmut/codel la mediana de SLP fue de 55 meses (4.58 años) para temozolomida y 61.3 meses (5.1 años) para RT. Estas cifras son más cercanas a nuestra cohorte. De hecho, en nuestra serie, para los pacientes tratados con solo RT la mediana de SLP fue de 5.84 años y para los tratados solo con QT fue de 6.60 años.

4) Los estudios con temozolomida en adyuvancia:

Estudio	Diseño estudio	Tratamiento	Criterios de inclusión	OS media (años)	PFS mediana	OS%	PFS %	Tiempo seguimiento	Oligos mut/1p/19q
Vaz MA et al	Retrospectivo	Observación - RT -QT QT/RT	Oligodendrogliomas/oligoastrocitomas (Grado II/III)	11.97	5.69			8.74 años	SLP 6.28 SG 12.7 años
RTOG0424	Fase II (n=129) Comparación con controles históricos	RT (54Gy) con Temodal conc y secuencial (x12ciclos)	GBG con 3 factores de alto riesgo (edad 40 años, histología astrocitaria, cruza la línea media, diam6cm, neurológico)	No alc	4.5 años	5 años 57% 3 años 73.1%	3 años 59.2%		
Wahl M et al. (Neuro Oncol 2017)	Fase II (n=125)	Temozolomida ciclos mensuales x 12 ciclos	Enfermedad tumoral residual	9.7 años Oligos: 10.8	3.8 años Oligos:4 .6años				

- RTOG2404 (RT+temozolomida) la SLP fue de 4.5 años y SG no alcanzada.

De nuevo no seleccionados por criterios moleculares.

- En el estudio de Wahl et al, con tratamiento postoperatorio con temozolomida en monoterapia, la SLP fue de 3.8 años y SG de 9.7 años

- En el caso de los oligodendrogliomas la SLP fue de 4.6 años y la de SG fue de 10.8 años. En el caso de los astrocitomas, la SLP fue de 3.3 años y la SG fue de 7.1 años.
- En el caso de 1p/19q codel, la mediana de SLP fue de 4.9 años y SG 9.7 años. Para los casos IDH mut, mediana de SLP de 3.6 años y SG 11.2 años.
- Por lo tanto, podemos ver también que la selección de casos por criterios histológicos y moleculares, se asocia aun aumento en supervivencia. En nuestra cohorte, ya que con el tratamiento de quimioterapia en monoterapia hemos encontrado una mediana de SLP de 6.6 años y SG 8.89 años.

5) Por otra parte, hemos analizado en nuestra serie la evolución de los pacientes que han recibido tratamiento con radioterapia adyuvante frente a los que han permanecido en observación, con el objetivo de poder comparar con los datos aportados por el estudio EORTC 22844 y EORTC 22845.

La SLP fue de 6.24 años para los tratados con RT frente a 7.13 para los que se mantuvieron en observación, las diferencias no alcanzaron una significación estadística. Los resultados para los tratados con radioterapia, son comparables a los del estudio de la EORTC 22845, donde la SLP fue de 5.3 años

En el grupo de observación hay una diferencia más clara, de 4.4 años frente a los 7.13 años en nuestra muestra.

Estas diferencias pueden deberse al carácter retrospectivo de este estudio, así como al tamaño muestral limitado y una mejor caracterización molecular en nuestra cohorte. En cuanto a la SG en los pacientes con RT adyuvante fue de 17,39 vs 12.73 años en los que se mantuvieron en observación. En el estudio de la EORTC la SG fue de 7.4 vs 7.2 años, similar a la rama control de nuestro estudio. Sin embargo, es de destacar la SG con RT que alcanza los 17.39 años, claramente mejor que los 7.4 años del estudio de la EORTC 22845. Estas diferencias pueden estar relacionadas con el tipo de pacientes incluidos en el estudio de la EORTC, sin selección a nivel molecular.

En conclusión, en nuestra muestra hemos encontrado 59 casos con oligodendroglioma grado II IDH mutado y codelecionados.

La mediana de edad fue de 44.59 años, es más habitual en hombres y se localiza más frecuentemente a nivel frontal. Todo ello concordante con los datos publicados en otros estudios.

Hemos encontrado que se había realizado resección completa en un 35% de casos y biopsia en 6.8%. El resto, resección parcial o subtotal. En nuestro estudio hay una mayor tasa de pacientes con resección completa y un menor porcentaje que se haya realizado un procedimiento basado en solo biopsia respecto a otros estudios publicados. Hemos podido objetivar una mayor supervivencia con la resección completa pero no alcanza la significación estadística.

La mediana de SLP fue de 7.13 años y la mediana de SG fue de 13.35 años.

Los tratamientos postoperatorios recibidos fueron radioterapia en un 39%, quimioterapia en un 22% y quimio-radioterapia en un 10%.

No recibieron ningún tipo de tratamiento adyuvante un 50% de los casos.

Esta situación heterogénea en cuanto a las recomendaciones de tratamiento postoperatoria, se explican, en cierta medida, por tiempo transcurrido (de 37 años) a los que corresponden los casos de esta cohorte. En este periodo de tiempo diferentes publicaciones han ido estableciendo distintas recomendaciones de tratamiento.

En cuanto al tratamiento postoperatorio hemos podido encontrar un beneficio para aquellos pacientes tratados con quimio-radioterapia frente al resto de opciones, pero sin que se alcanzara una diferencia estadísticamente significativa.

Los datos de nuestra cohorte son similares a las de los estudios con tratamientos más intensivos de quimio y radioterapia, a pesar que el 50% de los casos no recibe ningún tratamiento en adyuvancia. De hecho, la evolución de los pacientes sin tratamiento adyuvante es SLP de 7.13 años y SG 12.73 años. Todo esto en el contexto de una población donde el riesgo definido por criterios clínicos (>40 años o resección incompleta) lo cumplen el 79% de los casos. En nuestra opinión esto refuerza la importancia de la caracterización molecular en el pronóstico.

También se analizó de forma comparativa la evolución de los pacientes de bajo y alto riesgo clínico en los que se había realizado seguimiento y la SLP fue de 6.19 y 8.44 años, indicando la pérdida del impacto pronóstico de los aspectos clínicos cuando se aplican criterios moleculares.

5.2.6. Discusión de los datos clínicos de los oligodendrogliomas de grado III

En nuestro estudio se han analizado un total de 32 casos de oligodendroglioma anaplásico (35.16% del total de casos analizados). Tras la reclasificación, todos los pacientes tienen las características de mutación de IDH y codelección de 1p/19q.

La mediana de seguimiento fue de 8.53 años.

Para la discusión de nuestros resultados vamos a proceder a establecer comparaciones con los principales estudios clínicos publicados más recientemente: los estudios de fase III de la EORTC 26951, RTOG 9402, NOA04, el estudio retrospectivo de Lassman y el estudio de fase II BR0131 ^{[87][13][92][91][93]}.

A continuación exponemos una tabla resumen con los resultados de los principales estudios para facilitar la lectura de la discusión:

	N de paciente s	T de seguim	SG (años)	SLP	SG (1p/19q) años	SLP (1p/19q) años	Observaciones datos moleculares	otras
Vaz et al	32	8.53	6	4	12	4.8		
EORTC 26951 (RT vs RT→PCV x6 Estudio fase III)	368	12 años	2.55 vs 3.52 (sig)	13.2 mes vs 24.3 (sig)	9.3 vs no alcanzada (no sug) HR 0.56	4.1 vs 13.08 (sig)	-1p/19q el 25%(80 casos) - Factores Px: IDH mut, MGMT met, 1p/19q cod - Fac pred: IDH mut, MGMT met	Solo el 30% completaron 6 ciclos de tto -Revisión central confirmo el 70%
RTOG 9402 (RT vs PCV x4→R) Fase III	291	11.3 años	4.6 vs 4.7 (no sig)	1.7 vs 2.6 añ (sig)	7.3 vs 14.7 años(sig)	2.9 vs 8.4 años (sig)	- Codel 48% -IDH mut 74% -88 casos mut y codel	54% recibieron 4 ciclos
NOA 04 RT vs PCV vs TMZ Fase III	318 pac	9.5 años	6.5 vs 8 años (No sig)	2.7 vs 2.5 años (no sig)	No alc RT y PCV vs 8 a temo	8.6 RT 9.4 pcv 4.46 temo		
RTOG Br0131 Tmzx6→RT Fase II	40 pac	8.7 años	No alcanzada	5.8 años	No alc (74% a 7 años)	No alc		
Lassman. Restrospectivo	1040 pac 308 codel	5.2 años	6.3 a	3.1 a	8.5 a	4.5 a		

En primer lugar, el tamaño muestral de 32 pacientes podemos ponerlo en relación con los principales estudios publicados de oligodendrogliomas anaplásicos.

Vamos a comparar con el número de pacientes incluidos en los estudios de fase III publicados.

En estos estudios, la diferencia fundamental, es que se incluyeron pacientes con diagnóstico de oligodendroglioma (o bien oligoastrocitoma) anaplásico siguiendo criterios morfológicos de la WHO de 1993. El análisis molecular se realizó posteriormente.

En el estudio de la EORTC 26951 el total de pacientes incluido fue de 368 pacientes, de los cuales 80 casos tenían codeleción (25%). IDH mutados en 81 casos. No se detallan los casos que cumplan ambos criterios, mutación de IDH y deleción de 1p/19q.

En este estudio se realizó, además, una publicación con datos moleculares por NGS en 126 casos de los que se disponía de muestra histológica. Resultaron con codeleción de 1p/19q y catalogados como tipo oligodendroglioma en 49 casos (todos ellos tenían IDH mut y TERT mut).

En el estudio de la RTOG 9402 se incluyeron un total de 291 pacientes, y tenían codelección 126 casos (48%). En un estudio molecular más detallado con 210 muestras disponibles, las mutaciones en IDH se pudieron identificar en 156 casos, la mutación y codelección se observaron en 88 casos.

En el estudio NOA04 se incluyó un total de 318 pacientes. De las 181 muestras analizables, 74 eran codeleccionados (40.9%). IDH estaba mutado en 128 de 195 pacientes analizables (65.6%).

Además de los estudios de fase III, otros estudios relevantes para oligodendrogliomas anaplásicos son el estudio de fase II BR0131 y el estudio retrospectivo de Lassman.

El estudio BR0131 incluyó 40 pacientes, con codelección en 23 pacientes.

En el estudio retrospectivo de Lassman se incluyeron 1030 pacientes, y de ellos, 301 pacientes tenían codelección de 1p/19q (48%).

Por lo tanto, nuestro tamaño muestral, con 32 pacientes con oligodendroglioma anaplásico, no supone un número elevado de pacientes, pero los estudios de fase III también presentan un número limitado de pacientes cuando se tienen en cuenta sólo los casos con estudio molecular y por tanto que cumplirían los criterios de oligodendrogliomas anaplásicos actuales. Por esta razón, se puede considerar que nuestra serie, al tratarse de una serie bien seleccionada por criterios moleculares, aporta nuevos datos a los ya publicados.

Por otra parte, el número total de pacientes diagnosticados de oligodendroglioma anaplásico de los que se identificaron inicialmente fue de 63. De ellos 49 (77.8%) eran oligodendrogliomas anaplásicos puros y 14 casos (22%), oligoastrocitomas anaplásicos.

De esta forma el 50,8% de los pacientes inicialmente considerados oligodendrogliomas anaplásicos, cumplieron los criterios diagnósticos teniendo en cuenta los datos moleculares. En el estudio de la RTOG 9402 encontraron un 48% de los pacientes presentaban la codelección y en el estudio de la EORTC el 25%. En el caso del estudio NOA04, 40.9% de los casos resultaron codeleccionados.

Por tanto, podemos decir que el porcentaje de pacientes reclasificados al aplicar criterios moleculares es similar a otros estudios y se acerca al 50% de los casos.

En nuestra cohorte, la mediana de edad fue de 45.02 años (32.96-68.29 años). Por sexo, se encontraron 11 mujeres (34.4%) y 21 hombres (65.6%).

Estas características son similares a las descritas en otros estudios:

La mediana de edad en el estudio de la EORTC 26951 fue de 48-49 años, y en el estudio RTOG 9402 fue de 43 años. En el estudio NOA04 de 42 y 44 años (según la rama del estudio). En el estudio BR0131 la mediana de edad fue de 45 años y en el estudio retrospectivo de Lassman la mediana de edad fue de 42 años.

Por lo tanto, en nuestro estudio tenemos pacientes de una edad similar a los principales estudios en oligodendrogliomas anaplásicos.

En todos estos estudios hubo una predominancia en varones.

En cuanto a la extensión de la cirugía, en nuestro el grupo mayoritario ha sido el de los pacientes que tuvieron una resección completa (en un 50%) y solo un 3.1 % fueron biopsiados como procedimiento quirúrgico. En un 25% se consideró la resección como parcial.

Si comparamos estos resultados con los otros estudios:

En el estudio de la EORTC 26051, biopsia en un 15%, resección completa 31-41% y resección parcial en el 50%.

En el estudio de la RTOG9402, biopsia 10%, resección parcial entre un 52-57% y resección completa en un 27-37% de los casos.

En el estudio NOA04 biopsia en un 25-31% de los casos, resección parcial entre un 57-61% y resección completa entre un 47-53%.

En el estudio BR0131 se realizó sólo biopsia en un 3% y resección completa un 44%

En el estudio retrospectivo de lassman, la biopsia se realizó en 11% de los casos y un 85% se realizó una resección quirúrgica.

Por lo tanto, nuestro estudio tiene un menor porcentaje de casos en los que el procedimiento quirúrgico ha consistido solamente en toma de biopsia. Por otra parte la extensión de la cirugía parece más amplia en nuestra cohorte, con datos de resección completa en un 50% de los casos. En el resto de estudios analizados, la resección parcial ha sido la técnica más habitual. Hay que tener en cuenta que estos datos se han extraído de información recogida en las historias clínicas, y no se ha realizado una revisión centralizada de las imágenes postoperatorias por lo que puede haber un sesgo en la información recogida en cuanto a la extensión de la resección al tratarse además de un estudio retrospectivo.

El impacto encontrado de estos tratamientos en cuanto a supervivencia y cirugía en

nuestra serie fueron los siguientes:

La mediana de supervivencia libre de progresión para los pacientes con resección no completa fue de 4.37 años (IC95% 3.01- 5.73) y para los pacientes con resección completa fue de 4.8 (IC95% 1.67- 7.93) $p=0.87$.

Nuestra muestra tiene un número reducido de casos, solo biopsia se había realizado en 1 caso, resección parcial 8 casos y subtotal en 7 casos, y la mayoría de los casos tienen una cirugía extensa por lo que se puede explicar que no se hayan encontrado diferencias significativas.

Otros trabajos publicados indican el impacto de una cirugía más extensa con una mayor supervivencia y con un mejor control clínico.

Vamos a discutir en adelante los aspectos relacionados con los tratamientos adyuvantes postoperatorios:

Hay que subrayar que nuestra serie es retrospectiva y hay casos muy antiguos (los primeros de 1977), y en este periodo de tiempo las pautas de tratamiento han cambiado así como las recomendaciones terapéuticas.

1. Después del procedimiento quirúrgico, los pacientes recibieron diferentes opciones de tratamiento postoperatorio:

- 1) Un 18.8% de los casos no recibieron ningún tipo de tratamiento postoperatorio.

Los casos incluidos en esta decisión de seguimiento, sin tratamiento adyuvante, corresponden todos ellos a casos donde se había obtenido una resección completa, la mayoría de ellos tratados antes del año 2000: dos de ellos tratados en los años 80, dos en los años 90 y uno en 2001 y 2005.

- 2) Recibieron tratamiento de quimio y radioterapia un 31.3% de los casos: estos tratamientos fueron administrados en pacientes que iniciaron el tratamiento postquirúrgico desde el año 2004 hasta el 2015. El esquema de quimioterapia más utilizado fue de temozolomida. En un 56% de los casos la resección no fue completa.

En el año 2013 se objetivó mayor utilización del esquema de PCV como tratamiento de quimioterapia postoperatoria. No se han podido establecer

comparaciones entre los pacientes que recibieron temodal y PCV debido al escaso número de pacientes en cada una de las opciones de tratamiento de quimioterapia.

- 3) Pacientes que recibieron radioterapia postoperatoria sin quimioterapia, en 9 casos (28.1%). Estos casos fueron tratados en los años 80 y 90, la mayoría de los casos con resección no completa (el 78%).
- 4) Pacientes que recibieron quimioterapia postoperatoria sola (sin radioterapia), en 5 casos (un 15.62%). Estos casos se trataron entre 2009 y 2011, la mayoría con resección total o subtotal (80%). La quimioterapia elegida en estos casos fue temozolomida.

Estos datos ponen en evidencia la variabilidad en el tratamiento de esta enfermedad a lo largo de las últimas décadas.

Otros estudios han reflejado esta situación terapéutica en esta patología. Abrey et al publicaron en el año 2006 los resultados de una encuesta a miembros de la Sociedad de Neuro-Oncología en Estados Unidos. Reflejaba la situación en cuanto a las recomendaciones de tratamiento: el tratamiento más recomendado era el de radioterapia con temozolomida seguido de temozolomida adyuvante (32%). Si nos fijamos en el tratamiento recomendado para aquellos pacientes con pérdida de 1p/19q, el tratamiento más recomendado fue el de temozolomida sola 34%, seguido de radioterapia con temozolomida concurrente y adyuvante en un 18% y de radioterapia sola 11%. El estudio también ponía en evidencia que la mayor parte de los pacientes se les hacía un estudio molecular ^[86].

Comparado con estos datos, en nuestra serie reclasificada de oligodendroglioma anaplásico con mutación de IDH y codeleción de 1p/19q, el tratamiento adyuvante recomendado principalmente fue el de quimioterapia y radioterapia (31.3%) frente al 18% en el estudio de Abrey.

Por otra parte, la recomendación principal en el caso de la publicación de Abrey fue de temozolomida sola en un 34% y en nuestra serie de un 15.6%.

En cuanto a la recomendación de radioterapia sola fue del 4% en el estudio de Abrey, y del 28% en nuestra serie.

Por otra parte, hay que tener en cuenta que no es hasta el año 2013 que se conocieron

los resultados finales de los estudios de fase III de la EORTC 26951 y RTOG 9402, que indicaron un beneficio en SG para los pacientes codeleccionados al ser tratados con RT y quimioterapia con esquema PCV frente a radioterapia sola. De hecho, estos estudios habían dado lugar a publicaciones en el año 2006 donde se conocía que el tratamiento concurrente aumentaba la SLP pero no la SG. Esto llevó al planteamiento que un tratamiento secuencial era igual de eficaz en términos de supervivencia global. Del estudio NOA04 conocimos los primeros resultados en el año 2009, reforzando los datos favorables al planteamiento de una equivalencia entre el tratamiento de radioterapia y quimioterapia en monoterapia.

Por otra parte, podemos comparar nuestros resultados con el datos aportados por el estudio retrospectivo de Lassman et al. En este caso, un 20% de los casos habían sido tratados con radioterapia, en nuestra serie ha sido de un 28%; quimioterapia sola en un 20% de los casos (frente a 15.2% en nuestra cohorte) y RT y quimioterapia (concurrente o secuencial) en un 52% de los casos, frente a un 31% en nuestra serie. Dada la naturaleza retrospectiva de nuestra serie, no hemos encontrado un claro patrón para la indicación de uno u otro tratamiento. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, a parte de la extensión de la cirugía, otros parámetros como el tamaño de la lesión al diagnóstico, clínica o localización no han podido recogerse de las historias clínicas.

2. En cuanto a los datos de supervivencia global y supervivencia libre de progresión:

- La supervivencia global en nuestra serie para los oligodendrogliomas anaplásicos fue de 12.01 años (IC95% 5.66-11.35).
- En cuanto a la SLP, la mediana observada en nuestro estudio fue de 4.8 años.

A) Vamos a analizar los datos de SG en relación a los diferentes estudios de fase III:

La SG publicada en estos estudios fue la siguiente en los estudio de fase III:

- El estudio EORTC 26951: recordamos que es un estudio donde se randomizan los pacientes a ser tratados tras la cirugía o bien con radioterapia o bien radioterapia seguido de quimioterapia con esquema PCV.

	N de pacientes	T de seguim	SG (años)	SLP	SG (1p/19q) años	SLP (1p/19q) años	Observacion datos mol
Vaz et al	32	8.53	6	4	12	4.8	
EORTC 26951 (RT vs RT→PCV x6 Estudio fase III)	368	12 años	2.55 vs 3.52 (sig)	13.2 mes vs 24.3 (sig)	9.3 vs no alcanzada (no sug) HR 0.56	4.1 vs 13.08 (sig)	-1p/19q el 25% (80 casos)

En el estudio EORTC26951 encontraron que la mediana de supervivencia global fue de 3.52 años vs 2.55 años a favor de los tratados con quimioradioterapia versus los tratados con radioterapia (p=0.018). Como hemos señalado previamente, los criterios de inclusión en el estudio siguieron los criterios de la OMS de 1993, siguiendo criterios morfológicos, y además se incluyeron oligoastrocitomas que tuvieran al menos un 25% de componente oligodendroglial. El estudio se completó con un análisis molecular, y se encontró que había un 25% codeleccionados (80 casos). Se realizó un análisis de este subgrupo y la SG fue de 9.3 años para los tratados con RT y no alcanzada para los tratados con quimioradioterapia (p=0.059), con 12 años de seguimiento. Este estudio no hay datos concretos para aquellos pacientes que, como en el presente estudio, presentan mutación de IDH y codelección de 1p/19q. En cuanto a la SLP, la mediana para la población global fue de 13.2 meses para radioterapia frente a 24.3 meses para radioterapia y PCV (estadísticamente significativo). Para los pacientes codeleccionados fue de 13.08 años para el tratamiento combinado frente a 4.1 para los tratados con RT sola.

- El estudio de la RTOG 9402 también randomizaba los pacientes con oligodendroglioma anaplásico a RT o bien quimioterapia (PCV seguido de RT).

	N de pacientes	T de seguim	SG (años)	SLP	SG (1p/19q) años	SLP (1p/19q) años	Observaciones datos moleculares	otras
Vaz et al	32	8.53	6	4	12	4.8		
RTOG 9402 (RT vs PCV x4→R)	291	11.3 años	4.6 vs 4.7 (no sig)	1.7 vs 2.6 añ (sig)	7.3 vs 14.7 años(sig)	2.9 vs 8.4 años (sig)	- Codel 48% -IDH mut 74%	54% recibieron 4 ciclos

Fase III							-88 casos mut y codel	
----------	--	--	--	--	--	--	--------------------------	--

En el RTOG9402, la mediana de supervivencia global fue de 4.6 y 4.7 años. Al igual que el estudio de la EORTC 26951, también se incluyeron los pacientes siguiendo los mismos criterios morfológicos. Se añadió posteriormente un estudio molecular, y se observó que del total de casos, 126 presentaban codeleción de 1p/19q, y en estos casos, la mediana de supervivencia global fue de 14.7 años para los pacientes tratados con quimiorradioterapia y de 7.3 años para los tratados solo con radioterapia. La SLP, para los pacientes codelecionados, fue de 8.4 años para la rama de RT+PCV frente a 2.9 años para la rama de RT sola $p < 0.001$.

- En el estudio NOA 04 se randomizaron los pacientes con oligodendroglioma anaplásico, a recibir tratamiento con quimioterapia (PCV o temozolomida) o radioterapia tras la cirugía.

	N de pacientes	T de seguim	SG (años)	SLP	SG (1p/19q) años	SLP (1p/19q) años
Vaz et al	32	8.53	6	4	12	4.8
NOA 04 RT vs PCV vs TMZ Fase III	318 pac	9.5 años	6.5 vs 8 años (No sig)	2.7 vs 2.5 años (no sig)	No alc RT y PCV vs 8 a temo	8.6 RT 9.4 pcv 4.46 temo

En el NOA04 la mediana de supervivencia global fue de 6.5 años para la rama de quimioterapia y 8 años para la rama de RT. Los criterios de inclusión en este caso eran de gliomas grado III. Si en este estudio observamos la supervivencia encontrada en los pacientes codelecionados (un total de 74), todavía no alcanzada para PCV ni la rama de RT y temozolomida 8.09 años (tras una mediana de 9.5 años de seguimiento).

La mediana de SLP fue de 30.6 meses (2.55 años) para la rama de RT y de 31.9 meses (2.65 años) para la rama de quimioterapia. En pacientes con CIMP codel la mediana de PFS fue de 9.4 años para PCV, 4.46 para temozolomida y 8.67 para radioterapia.

- Además de los estudios de fase III estas los datos aportados por otros estudios:

El estudio retrospectivo de Lassman revisó una serie larga de casos con oligodendroglioma anaplásico:

	N de pacientes	T de seguim	SG (años)	SLP	SG (1p/19q) años	SLP (1p/19q) años
Vaz et al	32	8.53	6	4	12	4.8
Lassman. Restrospectivo	1040pac 308 codel	5.2 años	6.3 a	3.1 a	8.5 a	4.5 a

En este estudio retrospectivo, la mediana de SG fue de 6.3 años y en los casos con codelección la mediana de SG fue de 8.5 años.

En este estudio, la SLP fue de 3.1 años y de 4.5 años para los pacientes codeleccionados.

En definitiva los datos de SG en nuestra cohorte reclasificada son cercanos a los resultados de la rama de pacientes con tratamiento más intensivo de QT y RT en el estudio RTOG 9402 y superiores a las ramas de monoterapia. Estos datos de supervivencia en nuestra cohorte se han alcanzado aunque en nuestra serie solo un 31% de los casos se trataron con quimioterapia y radioterapia, y hubo un 18.8% de casos que no recibió tratamiento adyuvante postoperatorio.

Los datos de SLP para nuestro estudio han sido de 4.8 años y está en línea con los resultados del estudio retrospectivo de Lassman y más cercanos a los tratados en monoterapia en los estudios prospectivos de fase III.

B) Hemos analizado los datos de supervivencia en relación con las diferentes opciones de tratamiento:

En el análisis comparativo de las diferentes opciones de tratamiento hemos observado un mejor resultado para las opciones que incluyen quimioterapia (ya sea en forma de tratamiento con quimio y radioterapia ya sea en monoterapia), donde las medianas no se habían alcanzado.

Es de destacar las cifras de SG alcanzadas en aquellos pacientes que no reciben ningún tipo de tratamiento adyuvante, que analizaremos más adelante.

Por otra parte están los pacientes fueron tratados con RT en monoterapia, cuya mediana de SG fue de 6 años y es estadísticamente inferior a otras opciones de tratamiento (que tenían una mediana de 12.27 años).

Si revisamos los datos de RT en monoterapia en otros estudio podemos ver que en la rama con de RT del estudio EORTC la mediana de SG fue de 9.3 años y en el estudio RTOG 9402 fue de 7.3 años.

En el estudio retrospectivo de Lassman la mediana para los que habían recibido RT fue de 8.7 años.

Las cifras observadas en nuestra cohorte son inferiores, con una mediana de 6 años. Estos datos pudieran también guardar relación con sesgos al tratarse de un estudio retrospectivo y no randomizado por factores pronósticos.

Tambien en el estudio de Lassman encontraron que la rama de pacientes tratada con RT era la que tenía peor tiempo hasta la progresión y de forma estadísticamente significativo y en términos de SG también fue peor, pero sin alcanzar la significación estadística.

Estudio	SG RT monoterapia (años)
Vaz et al	6
EORTC	9.3
RTOG 9402	7.3
Lassman	8.7

En cuanto al tratamiento de quimioterapia, los datos indican un beneficio en supervivencia en los casos que se administra (ya sea en forma de combinada con RT o en monoterapia), frente aquellos que no la reciben.

Este beneficio también ha sido observado en el estudio publicado por Lassman, donde el beneficio, en el caso de los pacientes codeleccionados, fue de una mediana de 10.5 años para QT sola, pero sin significación estadística.

En el estudio NOA04, en los codeleccionados, la mediana de SG para la rama de RT y la rama de PCV no había sido alcanzada y con temozolomida fue de 8.09 años, por lo que no parece que se confirme un mayor beneficio de la quimioterapia en estos

pacientes.

En resumen, para los pacientes tratados con quimioterapia en monoterapia, los datos de nuestra cohorte y los diferentes estudios con los siguientes:

Estudio	SLP Qt monoterapia	SG QT monoterapia
Vaz et al	8.2	No alcanzada
Lassman (pacientes codel)	3.9	10.5
NOA04 (pac codel)	4.46 (temozolomida) 9.4 (rama PCV)	8.09 temozolomida No alcanzada PCV

Por último, señalar que hemos realizado un análisis comparativo de la SG entre RT y QT en monoterapia, con unas diferencias favorales a la quimioterapia de forma estadísticamente significativo.

De nuevo señalar que no descartamos que pueda estar en relación con sesgos relacionados con un muestra pequeña y retrospectiva.

Por último, el estudio CODEL, que se diseñó inicialmente con una rama de quimioterapia sola con temozolomida, y se encontró una mediana de SLP de 2.9 años. Esta rama se retiró finalmente del estudio al analizar 36 pacientes (dentro de los cuales 12 estaban asignados a la rama de temozolomida sola).

De una manera general estos datos indican que la administración de quimioterapia en la adyuvancia parece tener un impacto en la SLP como en SG en nuestro estudio.

La rama con quimioraditerapia tiene una tendencia a mejorar la SLP y SG pero sin alcanzar la significación estadística.

Por su parte la administración de radioterapia sola frente a otros tratamientos (que incluyen la quimioteradioterapia) ha resultado inferior en SLP (sin alcanzar la significación estadística) y SG.

Nuestra muestra no permite realizar analisis del beneficio segun el tipo de quimioterapia (PCV vs temozolomida), ya que solo un 3.1% de los pacientes recibieron tratamiento con PCV.

Hay que tener en cuenta, sin embargo que el tamaño muestral es pequeño y estos datos hay que analizarlos con cautela.

C) Hemos querido analizar los datos de supervivencia en aquellos casos que no habían recibido ningún tipo de tratamiento adyuvante.

Es de destacar la mediana de SG en estos casos que fue de 12.2 años. En nuestra serie esta situación se dió en 6 casos.

Por lo tanto, en esta cohorte bien clasificada por criterios moleculares, incluso en aquellos casos en que no se administra tratamiento adyuvante tras la cirugía, se observa una larga evolución. Estos datos, de nuevo, en nuestra opinión reflejan la importancia de la clasificación molecular en el pronóstico de los pacientes y por tanto, su especial importancia en cuanto a su papel para clasificar el riesgo y establecer indicaciones terapéuticas.

A modo de recapitulación, la SG para pacientes de grado II sin tratamiento fue de 12.73 años y para los oligodendrogliomas de grado III sin tratamiento postoperatodio fue de 12.2 años. Es decir, en nuestra cohorte se puede observar que la caracterización molecular diluye la importancia del grado como factor pronóstico de la evolución natural de la enfermedad sin tratamiento adyuvante. También subraya que en estos pacientes seleccionados molecularmente, la evolución natural de la enfermedad es larga incluso sin tratamiento adyuvante.

En resumen, en nuestra muestra hemos encontrado 32 casos con oligodendrogliomas anaplásicos con IDH mutado y codeleccionados.

La mediana de edad fue de 45.02 años y hemos encontrado que es más habitual en hombres (65.6%). Estos datos son concordante con lo publicado en estudios previos. Hemos encontrado que se había realizado resección completa en el 50% de los casos (16) y en un solo caso el procedimiento quirúrgico fue una biopsia. El tamaño de esta muestra y teniendo en cuenta que la mitad de los pacientes fueron considerados como resección completa no permite extraer conclusiones pero no se ha podido encontrar un impacto en la supervivencia según la extensión de la cirugía. Comparado con lo publicado en otros estudios, la resección completa se acerca a la descrita en nuestra cohorte y el porcentaje de biopsias está entre un 10-15% en la mayoría de los estudios. Es de destacar que comparativamente a lo publicado en los estudios de oligodendrogliomas de bajo grado, en los anaplásicos hay una mayor tasa de

resección completas y menos de biopsias. Sin embargo en nuestra cohorte no hubo diferencias marcadas entre la extensión de la cirugía entre los oligodendrogliomas de grado II y grado III, con un alto porcentaje de resecciones completas y biopsia por debajo del 10%.

Los tratamientos postoperatorios recibidos fueron RT un 60%, quimioterapia un 50% y quimio y radioterapia un 31.3%. no recibieron ningún tipo de tratamiento adyuvante un 19% de los casos.

Esta diferencia en las recomendaciones terapéuticas se explica en el contexto de diferentes las diferentes publicaciones en este ámbito que se han dado en un periodo de tiempo largo desde la inclusión del primer paciente en el año 77.

En cuanto al tratamiento postoperatorio hemos encontrado un beneficio de los pacientes que recibían quimioterapia adyuvante (radio y quimioterapia y quimioterapia sola), cuya mediana de supervivencia no ha sido alcanzada y entendemos que está por encima de 12 años que es la mediana de supervivencia global de toda la cohorte.

Esta mediana de supervivencia de 12 años es similar a la encontrada en la rama de tratamiento intensivo (quimio-y radioterapia) de los estudios publicados, de la EORTC 26951 y de le RTOG 9402. Todo ello a pesar que en nuestra cohorte solo fueron tratados con radio y quimioterapia un 31% de los casos y en un 19 % no recibieron ningún tratamiento. Por ello de nuevo planteamos la importancia pronóstica de la clasificación molecular, lo cual podemos ver en nuestra cohorte, con una mayor supervivencia a pesar de tener tratamientos menos intensivos.

Un 28% de los casos recibieron RT en monoterapia (9 casos), Los pacientes tratados solo con RT, la mayoría con resección incompleta, se asociaron a una peor evolución, con una mediana de supervivencia estadísticamente inferior a otras opciones terapéuticas (mediana de SG de 6 años).

Otro aspecto a destacar es el de la evolución de los pacientes que no recibieron ningún tipo de tratamiento. La mediana de supervivencia en estos casos fue de 12.27 años, y esto de nuevo, consideramos que refuerza la importancia de la clasificación molecular de cara a establecer un mejor pronóstico.

Para finalizar esta descripción clínica, quedaría hablar de las limitaciones de nuestro estudio:

- 1) Se trata de un estudio retrospectivo, por lo que hay que tener en cuenta

posibles factores de confusión.

- 2) La extensión de la resección se ha realizado en base a la impresión reflejada en los informes del neurocirujano. No hubo una revisión central.
- 3) No se realizó la recogida detallada del tratamiento postoperatorio ni aspectos clínicos como síntomas o KPS.

5.3. Discusión de los datos moleculares de la cohorte tras aplicar los criterios de la OMS de 2016. Cohorte reclasificada:

5.3.1. Discusión del proceso de reclasificación según los criterios de la OMS 2016

5.3.2 Discusión de los datos moleculares de la cohorte reclasificada

5.3.3 Discusión de los datos de la vía de las ciclinas en la cohorte reclasificada.

5.3.1. Discusión del proceso de reclasificación según los criterios de la OMS 2016.

A) PAPEL DE LOS DIFERENTES PARAMETROS MOLECULARES EN EL PROCESO DE LA RECLASIFICACIÓN

En nuestra muestra pudieron analizarse desde el punto de vista molecular 173 casos, de ellos 91 cumplieron finalmente los criterios de oligodendrogliomas con mutación de IDH y codeleción de 1p/19q. Es decir, el 52.1% de los clasificados inicialmente como oligodendrogliomas o bien oligoastrocitomas serían considerado como oligodendrogliomas siguiendo los criterios actuales de 2016.

La causa principal de esta reclasificación ha sido por no encontrar mutación de IDH en un 13.8% y la ausencia de codeleción de 1p/19q en un 33.5%.

El cambio de diagnóstico sobre todo se produjo por codeleción negativa (51 casos) o no posible su determinación (7 casos).

En los casos que no se pudo determinar eran muestras pertenecían a pacientes diagnosticados en los años 70 o en los años 80 y el material no se podía valorar.

Estos casos, no se pudo confirmar que cumplieran los criterios de oligodendrogliomas (7.6%) y fueron también excluidos de la muestra final.

En definitiva, en un porcentaje importante de casos (prácticamente el 50%) no se pudo confirmar el diagnóstico de oligodendroglioma siguiendo los criterios de la OMS de 2016.

Otros trabajos han analizado también los datos tras realizar reclasificación de los tumores cerebrales con criterios de la OMS 2016.

Valera-Melé et al revisaron, de forma retrospectiva, una serie de casos (147) de tumores gliales (astrocitarios y oligodendrogliales grado II y III, glioblastomas y ependimomas), del hospital Gregorio Marañón de Madrid y de ellos pudieron hacer el estudio molecular en 74 casos. Encontraron un cambio de diagnóstico en 23 casos (31%). De los que hubo cambio en el diagnóstico al aplicar los datos moleculares, en el 87% tenían diagnóstico previo de oligodendroglioma, la mayoría de grado II. Estos casos se reclasificaron a astrocitomas. La causa fundamental de este cambio de diagnóstico fue la de obtener una codeleción de 1p/19q negativa. Solo en 3 casos se cambió el diagnóstico de tumor astrocitario a tumor oligodendroglioma. Los autores señalan que la mayor tendencia al cambio de diagnóstico se dio en los pacientes con oligodendroglioma inicial, con presencia de IDH1 positivo, pero codeleción 1p/19q negativo.

Estos resultados se asemejan a los nuestros, donde el mayor porcentaje de cambios en el diagnóstico ha sido por no cumplir el criterio de la codeleción de 1p/19q (33.5% de los casos) ^[115].

Otros estudios en los que también se ha realizado un estudio molecular tras la inclusión de pacientes por criterios previos a los de la OMS de 2016 fueron los estudios de fase III (para oligodendroglioma anaplasico, EORTC 26951 y RTOG 9402). En estos estudios los criterios de inclusión fueron que cumplieran los criterios de oligodendroglioma o bien oligoastrocitoma con al menos 25% de componente oligodendroglioma. Utilizaron, por tanto, criterios morfológicos para la inclusión de pacientes.

En el caso del estudio de la EORTC 26951, se incluyeron 368 pacientes y de estos, por revisión central se confirmaron como oligodendrogliomas 257 pacientes. Los que tenían muestra para analizar 1p/19q fueron 316 casos y de ellos solo el 25% tuvieron codeleción (80 casos). En el estudio molecular por NGS, todos los pacientes con codeleción de 1p/19q cumplían el criterio de mutación de IDH. Por lo tanto, podemos ver que al aplicar los criterios de la OMS 2016 un número importante de pacientes no

cumpliría los criterios de oligodendroglioma (en este estudio en un porcentaje incluso mayor que en nuestra serie).

En el estudio de la RTOG9402 se incluyeron 291 pacientes. Se detectó codeleción de 1p/19 en 126 de los 263 casos que había información (un 48%). Además, de los pacientes que se pudieron hacer ambos, tanto la mutación de IDH como la codeleción de 1p/19q (208 casos), en un 42% se encontraron ambos (88 casos).

En nuestra serie encontramos una cifra cercana a estos estudios, y hemos encontrado que un 53% de los casos de los que se disponía de muestra para el análisis molecular, finalmente cumplía los criterios requeridos. De los casos analizados, el resto no cumplía criterios de mutación de IDH y/o codeleción de 1p/19q.

En los estudios de fase III de oligodendrogliomas de grado II (RTOG9802 y EORTC22033), también fueron incluidos los casos con criterios morfológicos y después se hizo un análisis molecular.

En el estudio RTOG9802 se incluyeron un total de 251 pacientes, y se analizaron 117 muestras para mutación de IDH, y estaba presente en aproximadamente el 60% de los casos, había muestra para 1p/19q en 63 casos.

En el estudio EORTC 22033 se incluyeron 477 pacientes y la codeleción de 1p/19q se detectó en un 33% de los casos y las mutaciones de IDH en el 83%.

Estos datos confirman que tanto en oligodendrogliomas de grado II como grado III, la reclasificación de criterios morfológicos a criterios moleculares implica un porcentaje importante de pacientes, que puede acercarse al 50%.

En otra serie publicada de 124 pacientes, en 3 de 46 casos eran considerados astrocitomas y se reclasificaron a oligodendrogliomas (6%). En cambio 30 de 42 pacientes fueron reclasificados de oligodendrogliomas a astrocitomas por ausencia de codeleción de 1p/19q (71%) ^[116].

En nuestra serie se han reclasificado en una proporción similar los oligodendrogliomas de grado II y de grado III: 59 de los 119 casos considerados de bajo grado se consideraron molecularmente oligodendrogliomas (52%) y 32 de los 63

casos de alto grado se consideraron finalmente como oligodendroglioma grado III (50%).

Algunos autores han encontrado que el cambio de diagnóstico se daba sobre todo en oligodendrogliomas y especialmente en los de bajo grado (el 70% de los casos en los que se cambió el diagnóstico), debido a obtener una codelección 1p/19q negativa ^[115].

Y otros, sin embargo, han encontrado que la frecuencia de la mutación de IDH y la codelección de 1p/19q era más frecuente en tumores de bajo grado que en los de alto grado, es decir, encontraron menor tasa de reclasificación en los tumores de bajo grado que en los de alto grado ^[101].

En este último estudio también se pudo confirmar que la mayoría de los pacientes reclasificados son aquellos que tienen diagnóstico previo de oligodendroglioma y que posteriormente no cumplen los criterios requeridos por la OMS, particularmente la codelección de 1p/19q.

B) PAPEL DE LA TÉCNICA DE NGS PARA LA RECLASIFICACIÓN

Por otro lado, están las situaciones donde se ha utilizado el panel de NGS.

El panel resultó de ayuda para resolver casos con dudas diagnósticas.

B.1) Situaciones relacionadas con la codelección de 1p/19q:

De 16 casos donde 1p/19q seguía siendo desconocido tras la técnica de FISH, en un 37.5% de los casos se pudo obtener información adicional por esta técnica de NGS. Sobre todo, teniendo en cuenta que muchas de estas muestras son antiguas (algunas de las muestras son de los años 70-80).

Se pudieron determinar 4 casos de codelección que no se habían podido determinar por método FISH, esto corresponde a un 25% del total de las muestras analizadas (4/16).

Encontramos 10 casos donde 1p/19q había resultado no codeleccionado, sin embargo, los datos eran discordantes con otros resultados moleculares. De estos, 5 resultaron estar codeleccionados. Por tanto, se pudo reclasificar el 50% de los analizados.

Había 4 casos con deleción parcial, en 1 caso se encontró codelección (25% de la muestra).

El total de casos que se pudo determinar finalmente por NGS la codeleción de 1p/19q fue de 10 casos (de un total de 30 revisados por NGS), un 33%.

También Dubbink et al encontraron datos similares. Analizaron con técnica de NGS los pacientes incluidos en el estudio de la EORTC 26951, con diagnóstico de oligodendroglioma anaplásico. Encontraron que por técnica NGS pudieron detectar más casos que los que habían detectado por técnica de FISH, con una discordancia hasta de unos 20 de 133 casos analizados (15%) que no se habían diagnosticado por FISH y sí se diagnosticaron por NGS. Los autores en la discusión concluyen que el porcentaje de paciente en los que se detectó la codeleción de 1p/19q es mayor con la técnica de NGS que con la técnica de FISH, de manera que la consideran una técnica más sensible.

B.2) También hemos podido revisar es la utilidad de esta técnica en el caso de discordancias con la mutación de IDH.

En 5 casos no se había detectado mutación de IDH por IHQ ni HRM, pero había datos discordantes ya que se conocía que existía la codeleción de 1p/19q o mutación de TERT.

En 3 casos se encontró mutación de IDH (uno en IDH2) y 2 en IDH1 (uno de estos no estaba presente, además, el criterio de codeleción de 1p/19q y se excluyó).

Otro aspecto a tener en cuenta con la realización de técnicas NGS es que permite asegurar la consistencia de los hallazgos moleculares, teniendo en cuenta que ya se conoce que hay hallazgos que son mutuamente excluyentes y otros que suelen ir asociados.

B.3) También, dentro de esta consistencia molecular, están los datos relacionados con TERT y también con ATRX.

Podemos mencionar que en nuestra muestra encontramos ATRX no concordante en 7 casos, en 2 de estos casos la IHQ presentaba dudas en cuanto a su expresión y al realizar el panel de NGS se confirmó la ausencia de mutación y en otros 5 casos que se consideró que había pérdida de expresión por IHQ, el resultado del panel de NGS confirmó la ausencia de mutación de ATRX. Por lo tanto, en nuestra muestra no hemos encontrado casos con mutación de ATRX, tras realizar el estudio por panel de NGS. En 2 casos la muestra estaba muy artefactada y no se pudo analizar.

5.3.2 Discusión de los datos moleculares de la cohorte reclasificada.

La presencia de la mutación de IDH fue un requisito para la reclasificación.

Hemos podido constatar la presencia de mutación IDH2 en aproximadamente un 10% de los casos.

Otros autores han encontrado un porcentaje de mutaciones en IDH2 algo más baja, en torno a un 5% ^[117].

Nosotros no hemos encontrado diferencias marcadas en el porcentaje de mutaciones en IDH2 entre los oligodendrogliomas de grado II y grado III. Tampoco los autores del estudio previo han encontrado esas diferencias.

No hemos encontrado que el tipo de mutación en IDH1 o IDH2 tenga un impacto pronóstico en la supervivencia y tampoco la mutación IDH1 R132H sobre el resto.

Hemos encontrado mutación en el promotor de TERT en un 88% de los casos y sólo en un 4.4% resultó WT (en 7 casos no se pudo analizar). La mutación más frecuente fue la C228 (45-62%).

Estos datos se encontraron en la cohorte global y también en los oligodendrogliomas de grado II y grado III. En los anaplásicos la presencia de la mutación se confirmó hasta en el 96.5% de los casos.

En el estudio de la EORTC 26951 han encontrado mutación de TERT en el 98% de los casos dentro del grupo I (codeleccionados).

No hemos podido comprobar que la mutación de TERT o el tipo de mutación tengan impacto en la supervivencia.

En los oligodendrogliomas de grado II:

Se ha detectado mutación en IDH1 en el 88.1% de los casos y mutaciones en IDH2 en 11.9%. En el estudio de la EORTC 22033 encontraron un 3%.

Dentro de las mutaciones de TERT, un 45.8% estaban mutados en C228T y 37.3% en C250T.

Ninguno de estos aspectos moleculares tuvo impacto en la SG.

En los oligodendrogliomas de grado III:

Hemos encontrado positividad de IDH1 en 29 casos y de IDH2 en 2 casos (3.1%). En el estudio de la RTOG 9402, en donde de 156 casos con mutación, en 2 casos se encontró mutación para IDH2.

Hemos encontrado mutaciones en TERT en el 96.9% de los casos, al igual que otras series como el estudio molecular realizado dentro del estudio de la ERTC 26591, con un 98% de las muestras con mutación de TERT.

5.3.3. Discusión de los datos de la vía de las ciclinas en la cohorte reclasificada.

En primer lugar, hay que subrayar el hecho de que nuestra serie se ha seleccionado en base a los criterios de la OMS 2016. Todos los casos tienen mutación de IDH y pérdida de 1p/19q.

Muchos de los trabajos previos que habían estudiado la vía de las ciclinas en oligodendrogliomas, habían utilizado criterios para selección de casos de tipo morfológico. Estos estudios se publicaron en los años 90 y principios del 2000. Con los criterios actuales, en esas series fueron incluidos casos que quedarían clasificados como astrocitomas o incluso como glioblastomas, por lo que hay que hacer un análisis cuidadoso de los resultados.

Por lo tanto, nos ha parecido importante determinar si la vía de las ciclinas es relevante considerado desde una muestra mejor seleccionada, en base a la reclasificación actual de la OMS 2016.

Los datos moleculares de la vía de las ciclinas analizados fueron p16, ciclina D1, y Rb por IHQ.

A) Discusión de los resultados de la expresión de p16.

En nuestra serie hemos encontrado ausencia de expresión de p16 tanto en los oligodendrogliomas grado II como grado III. En el 16% (7 casos) de los oligodendrogliomas grado II se encontró pérdida de expresión de p16.

En los oligodendrogliomas de grado III esta pérdida de expresión ocurrió en un 32.1% (9 casos).

Además, esta pérdida de expresión, en nuestra serie, se asocia a una peor supervivencia global de forma estadísticamente significativa en los oligodendrogliomas de grado III (con mediana de SG de 4.76 años vs 17.49 años en ausencia vs presencia de expresión de p16) y también en el conjunto de los casos (grado II y grado III), donde la mediana de supervivencia pasaba de 9.03 a 13.35 años en ausencia vs presencia de p16 y la HR fue de 0.41. En el análisis de los oligodendrogliomas de grado II la diferencia no alcanzó la significación estadística (10.86 años vs 13.35 años).

Estos datos ponen en evidencia la presencia de la pérdida de expresión de p16 en estos tumores, así como su importancia pronóstica.

Otros estudios previos habían analizado la importancia la vía de las ciclinas en estos tumores.

Los diferentes estudios han utilizado distintos enfoques: han analizado o bien pérdida del cromosoma 9 o CDKN2A o p16.

La alteración de estas moléculas está relacionada entre sí: la pérdida del gen CDKN2A, localizado en 9p21, está relacionado con la delección de 9p. CDKN2A sintetiza p16.

Como hemos visto, p16 es un inhibidor de CDK4/CDK6, que están implicados en la fosforilación de Rb y por tanto en progresión del ciclo de fase G1 a S. Actúa por tanto como gen supresor de tumores.

De los estudios realizados en los años 90, Bigner y colab habían analizado la delección de 9p /CDKN2A en 55 oligodendrogliomas. Encontraron delección en 42% de los casos de grado III frente a 14% en grado II.

Nuestros datos son similares con un 32% frente a 16% en grado II (aunque nosotros hemos determinado la expresión de la proteína por IHQ, y no la delección).

Estos datos reflejan la importancia que pueda tener CDKN2A/p16 en los tumores de tipo oligodendroglioma y el paso de oligodendrogliomas de grado II a grado III ^[38].

Otros autores, como Cairncross et al describieron que la pérdida de CDKN2A se daba sobre todo en los tumores con 1p/19q intacto. Los datos encontrados en el trabajo de

Cairncross podrían indicar que CDKN2A podría estar implicado sólo en tumores de otro tipo histológico como el astrocitario (y no en el oligodendroglioma).

Sin embargo, nuestros datos, realizados sobre una serie con casos de oligodendrogliomas con IDH mut y pérdida de 1p/19q corroboran los datos encontrados por Bigner y colb, donde se observaba que había asociación de pérdida 9p/CDKN2A y oligodendrogliomas con pérdida de 1p/19q (el 70% de los casos con pérdida de 9p tenían pérdida de 1p/19q).

De nuevo, debemos puntualizar que, a diferencia del trabajo de Bigner et al, nosotros hemos determinado la expresión de la proteína p16 por IHQ, y no la delección de 9p/CDKN2A ^{[95][40]}.

También, por esos años, otros estudios incidían en la importancia de la expresión de CDKN2A/p16 como paso para la progresión tumoral, y encontraron que la falta de expresión de CDKN2A/p16 pueda utilizarse para identificar aquellos tumores astrocitarios y también en los oligodendrogliales, que pueden evolucionar peor ^[41].

Estudios mas recientes también han encontrado la implicación la pérdida de 9p o delección de CDKN2A o pérdida de expresión de p16, en tumores oligodendrogliales. Appay et al encontraron delección homocigota en un 33% de los casos que analizaron con oligodendrogliomas anaplásicos en una serie de 483 casos con IDH mutado y pérdida de 1p/19q ^[45].

Otro aspecto a considerar es el de la pérdida de expresión de p16 en los oligodendrogliomas de grado II. Nosotros hemos encontrado pérdida de expresión p16 en los oligodendrogliomas de grado III (32.1%), pero también en los casos con oligodendroglioma de grado II (en un 16%).

Bigner et al encontraron pérdida del cromosoma 9 en un 21% de los casos de grado III, pero no encontraron delección homocigota en ningún caso de bajo grado.

En el trabajo de Appay y colab no encontraron casos de delección homocigota de CDKN2A en los casos analizados de gliomas de grado II (codeleccionados o no, un total de 40 casos).

En ambos trabajos evaluaron la delección a nivel cromosómico y en nuestro trabajo hemos analizado la pérdida de expresión de la proteína, esto podría explicar los

hallazgos divergentes. Consideramos que podría ser interesante analizar en el futuro esta delección en nuestra muestra.

Otro aspecto que se ha investigado en otros trabajos es la correlación con hallazgos histológicos.

En nuestra muestra, no se ha encontrado relación estadísticamente significativa entre la pérdida de expresión de p16 y la presencia de proliferación microvascular en los oligodendrogliomas anaplásicos: Chi2 0.802.

Aunque no se ha encontrado esta relación desde el punto de vista estadístico, hay que destacar algunos aspectos descriptivos: se ha observado que el 85% de los oligodendrogliomas anaplásicos tenían proliferación microvascular.

Además, seleccionamos los casos en los que teníamos datos de la presencia o no de proliferación microvascular y a la vez de la expresión de p16: de los casos con pérdida de expresión de p16, el 88% de los que tenían proliferación microvascular.

Es decir, parece haber una asociación entre la pérdida de expresión de p16 y la presencia de proliferación microvascular, aunque no haya alcanzado la significación estadística, tal como han encontrado otros autores.

En cuanto a la necrosis, no se ha encontrado una relación estadísticamente significativa con la pérdida de expresión de p16: Chi2 0.175.

Estos datos han sido también analizados por otros autores,

Godfraind et al encontraron en los oligodendrogliomas anaplásicos, asociación entre la pérdida del cromosoma 9 y la presencia de proliferación microvascular y la necrosis. En su serie, 8 de cada 9 pacientes con oligodendrogliomas anaplasicos con presencia de proliferación microvascular, tenían delección de 9p.

Figarella-Branger et al revisaron 203 casos de oligodendrogliomas anaplásicos y encontraron que la proliferación microvascular estaba asociada con pérdida del cromosoma 9.

El número de pacientes analizados en nuestra muestra fue de 32 casos y encontramos que en 9 casos con pérdida de expresión de p16, en 8 de ellos había proliferación microvascular. No se alcanzó, sin embargo, una diferencia estadísticamente significativa. Los datos sin embargo corroboran a los publicados por Godfraind et al [118] [43].

Publicaciones previas habían analizado la posible relación entre la captación de

contraste en el RM y la pérdida de 9p.

Hemos querido analizar estos datos también en nuestra serie. En cuanto a la captación de contraste en la RM en los oligodendrogliomas anaplásicos no hemos encontrado una correlación estadísticamente significativa con la pérdida de expresión de p16: $\chi^2 = 0.668$.

Sin embargo, Reyes- Botero et al revisaron 50 casos de oligodendrogliomas anaplásicos y encontraron que la imagen de RM con realce de contraste se asociaba a la pérdida de 9p y CDKN2A de manera estadísticamente significativa.

Es posible que esta discrepancia de otros trabajos esté relacionada con el escaso número de pacientes analizados en nuestra muestra.

En nuestro estudio, la pérdida de p16 se asocia de forma estadísticamente significativa a un peor pronóstico, de forma más clara en los oligodendrogliomas de grado III.

Varios estudios han incidido en el valor pronóstico de la pérdida del cromosoma 9 o deleción de CDKN2 o pérdida de expresión de p16.

Appay et al revisaron 483 casos de oligodendroglioma anaplásico con IDH mutado y 1p/19q codeleción. Revisaron la deleción de CDKN2A, y también deleción de Rb y CDK4.

En los pacientes con codeleción 1p/19q, la deleción de CDKN2A fue un factor adverso de mal pronóstico.

Además, vieron que la deleción de CDKN2A es un factor pronóstico tanto en casos sin codeleción (analizaron 428 casos), como codelecionados (483 casos). Sugieren por ello la importancia de la utilización de CDKN2A como método para clasificar a los gliomas IDH mutados (astrocitarios y oligodendrogliales)

Nuestro trabajo está en la misma línea que estos datos, p16 (sintetizada por CDKN2A) resulta ser un como marcador pronóstico en oligodendrogliomas anaplásicos.

Más adelante discutiremos la correlación entre la deleción cromosómica y la expresión de p16 ^[119].

Un aspecto también muy interesante de este trabajo es que encontraron que esta deleción de CDKN2A parece ser el primer factor de estratificación del riesgo (mejor

que los criterios de proliferación microvascular y necrosis). Solo en ausencia de delección de CDKN2A, la presencia de estas 2 características fue relevante. Los autores en la conclusión sugieren que CDKN2A puede ser de gran interés para la gradación de estos tumores ^[45].

En nuestra cohorte, hemos analizado si la proliferación microvascular o la necrosis, objetivadas en la anatomía patológica, se correlacionaba con la SG en los oligodendrogliomas anaplásicos y no se ha podido demostrar correlación pronóstica. Por otra parte, hemos realizado un análisis multivariante incluyendo extensión de la cirugía, tratamiento adyuvante, grado tumoral y presencia o ausencia de pérdida de expresión de p16. Se ha observado como único factor pronóstico significativo la pérdida de expresión de p16 ($p=0.034$).

Estos resultados corroboran los de Appay y cols en su estudio: también realizaron un análisis multivariante teniendo en cuenta la edad, la extensión de la cirugía, tratamiento adyuvante y proliferación microvascular y necrosis. CDKN2A se mantuvo como factor pronóstico independiente.

Estos datos implican que la pérdida de cromosoma 9/ delección de CDKN2A/pérdida de expresión de p16 podrían ser utilizados para categorizar el pronóstico de estos pacientes e incluso pueden tener valor por encima de la clasificación del grado tumoral según los datos encontrados en nuestra serie.

De hecho, tras la reclasificación de la OMS de 2016, y los datos procedentes de diferentes estudios, se ha ido consolidando la importancia de los datos moleculares para la definición de los tumores cerebrales su gradación y pronóstico.

En esta línea, en los tumores astrocitarios se ha ido afianzando el papel de la información molecular y un ejemplo de ello es la propuesta de incorporación de CDKN2A/B para la gradación a tumores de más alto grado.

De hecho, en la publicación cIMPACT-NOW update05 se propone optimizar la gradación de los tumores de tipo astrocitarios basándose en mecanismos moleculares. Recomiendan la introducción de la delección de CDKN2A/B para el sistema de gradación.

Los estudios previos habían puesto en evidencia que la delección homocigota de CDKN2A y amplificación CDK4 se asociaban a peor pronóstico en los casos de astrocitoma con mutación de IDH.

Partiendo de esta evidencia, proponen una nueva denominación para la siguiente clasificación de la OMS:

- a) Astrocitoma, IDH mutado, grado 2 serian: Astrocitomas con IDH mutado, escasa actividad mitótica, no datos de anaplasia, proliferación microvascular o necrosis.
- b) Astrocitoma, IDH mutado, grado 3: astrocitoma IDH mutado, con elevada actividad mitótica, anaplasia histológica, pero sin proliferación microvascular o necrosis ni delección homocigota de CDK2NA/B
- c) Astrocitoma, IDH mutado, WHO grado 4: astrocitoma con IDH mutado, con proliferación microvascular o necrosis o delección de CDKN2A/B o cualquier combinación de estas características. Se propone no usar el término de glioblastoma, IDH mutado, WHO grado IV.

Tal como acabamos de describir para los tumores de tipo astrocitario, los datos de nuestra serie apoyan el valor de la pérdida de expresión de p16 como mecanismo molecular que puede permitir clasificar el riesgo también en los oligodendrogliomas. En nuestro caso solo hemos hecho estudio IHQ de p16, por lo que no podemos extrapolar estos resultados a la pérdida de 9p/delección de CDKN2A.

Uno de los trabajos más iniciales en esta línea fue el de Miettinen et al publicado en el año 1999. Analizaron 42 oligodendrogliomas (no seleccionados por criterios actuales), y encontraron que la delección de CDKN2A/ pérdida de expresión de p16 se asociaba a un peor pronóstico en los oligodendrogliomas.

Otros trabajos han buscado el papel de este marcador molecular en oligodendrogliomas en casos seleccionados por criterios actuales.

En esta línea está el trabajo de Michaud K et al en una serie de oligodendrogliomas con mutación de IDH y codelección de 1p/19q.

En este trabajo se analizaron la expresión de p16, pero también la delección de 9p.

En los oligodendrogliomas grado II no se encontró delección de 9p y en los oligodendrogliomas grado III en un 55% de los casos. La delección de 9p se relacionó con una peor supervivencia.

Por otra parte, analizaron la expresión de p16 por IHQ. Encontraron pérdida de expresión de p16 en 11/40 casos (27%); en un 22% sin delección de 9p y un 32% con delección de 9p^[47]

En este estudio de Michaud et al encontraron que la pérdida de expresión de p16 se relacionó con peor supervivencia en oligodendrogliomas grado III con delección de 9p, pero no en los pacientes con 9p intacto ni en los de grado II.

Para los casos con 9p delecionado y pérdida de p16, la diferencia encontrada en supervivencia fue de 2.33 años y para los que mantenían la expresión de p16 fue de 4.5 años, estadísticamente significativo. En nuestra serie las diferencias fueron más marcadas, de 4,76 vs 17.49 años, también estadísticamente significativas.

Por otra parte, encontraron correlación entre la sobreexpresión de p16 y peor supervivencia en oligodendrogliomas grado II y en los de grado III sin delección de 9p. En nuestro estudio no hemos encontrado esta correlación.

Los autores en la discusión consideran que en los pacientes con delección de 9p se produce una disminución de la expresión de p16 y esto lleva a la pérdida de inhibición de CDK4/6 y un aumento de la proliferación celular. Sin embargo, en ausencia de delección de 9p, la evolución desfavorable de estos casos no ocurre a través de la pérdida de expresión de p16 si no por otros mecanismos, y en estos casos, podría llevar a una sobreexpresión de p16 que se activaría como supresor de tumores (pero de forma ineficiente) para compensar otras vías oncogénicas activadas.

La pérdida del cromosoma 9 (donde se encuentra localizado CDKN2A/p16) también ha sido estudiada en otros trabajos. Alentorn et al analizaron 216 pacientes con tumores oligodendrogliales con pérdida de 1p/19q. La pérdida cromosómica de 9p21.3 se detectó en un 42% de los casos y se asoció a peor pronóstico (tanto en SLP como SG)^[46].

En nuestro trabajo hemos utilizado p16 por IHQ como marcador. No hemos podido realizar la determinación de la delección de CDKN2A ni pérdida cromosómica de 9p, y consideramos que los datos no se pueden directamente extrapolar.

De hecho, la delección homocigota se determina bien por FISH, PCR cuantitativa, MPLA o NGS. La expresión de p16 se analiza por IHQ ^[28].

En este sentido, un aspecto a tener en cuenta, por tanto, es de si la pérdida de expresión de p16 es un buen marcador subrogado de la delección de CDKN2A y o de la pérdida del cromosoma 9.

Hemos encontrado pocos trabajos dirigidos a responder a esta pregunta en tumores gliales. Purkait S et al buscaron, en glioblastomas, la correlación entre la delección de CDKN2A y la expresión de la proteína p16. Se consideró p16 positivo cuando al menos 1% de las células tumorales expresaba p16. Encontraron que la correlación era altamente significativa: el 85% de los pacientes con delección de CDKN2A tenían pérdida de expresión de p16. La pérdida de p16 tenía alta sensibilidad (81.5%) y muy alto valor predictivo negativo (84.8%) ^[120].

Bigner et al encontraron en su serie, al analizar los casos de oligodendrogliomas anaplásicos, 10 casos con pérdida de 9p, de ellos 6 casos también se observó pérdida de CDKN2A. En un caso no había información de la pérdida de 9p y sí de tenía pérdida de CDKN2A. La concordancia fue del 60-70%.

Otras series como Rao et al y Bruns et al también encontraron una buena correlación entre la pérdida de expresión de p16 y la delección de CDKN2A. En ambos estudios, todos los casos con delección homocigota de CDKN2A tenían pérdida de expresión de p16 ^{[121] [122]}.

Otros trabajos no han encontrado una buena correlación entre la expresión de p16 por IHQ y la detección de la delección de CDKN2A. Los autores señalan que, en cualquier caso, la expresión nuclear basal que ellos han encontrado era muy baja en la mayoría de las muestras para permitir una detección definitiva de la pérdida de expresión ^[123] ^[119].

Aunque en nuestra serie no hemos determinado la delección de CDKN2A, consideramos que esta determinación de CDKN2A podría aportar datos relevantes.

B) Discusión de resultados de ciclina D1

También hemos analizado la expresión de la ciclina D1. Hemos encontrado expresión de ciclina D1 tanto en oligodendrogliomas grado II como grado III. Hemos objetivado una mayor expresión de ciclina D1 en los oligodendrogliomas de grado III. La ausencia de expresión en los oligodendrogliomas de grado II fue del 71% y la ausencia de expresión en los oligodendrogliomas de grado III fue del 32%. Fiano et al publicaron los resultados de la expresión por IHQ de diferentes compuestos de la vía de las ciclinas. Encontraron que los niveles de ciclina D1 aumentaban con el grado de anaplasia, con una correlación lineal con el MIB1 index labeling ^[48].

Otros trabajos realizados en modelos animales sugieren que ciclina D1 y CDK4 tienen un papel importante en el desarrollo tumoral de los gliomas, así como en el microambiente tumoral influyendo en el crecimiento tumoral. La pérdida de CDK4 impedía el desarrollo tumoral. La pérdida de ciclina D1 impedía el paso hacia grados más altos de malignidad ^[49].

También se ha analizado el valor pronóstico de la expresión de ciclina D1. Se ha considerado alta expresión cuando se había expresión por encima del 25%. Hemos encontrado 6 casos y se ha podido ver que existe una correlación entre esta sobreexpresión y un peor pronóstico, en el conjunto de la serie y en los oligodendrogliomas grado II (mediana de 6.31 años frente a 12.73 años). También Michaud y cols han encontrado esta correlación de la sobreexpresión de D1 y peor pronóstico, y en la discusión incluyen que su hallazgo debe ser confirmado con otras series ^[47].

D) Discusión de los resultados de Rb

Hemos analizado por inmunohistoquímica la expresión de Rb. Se analizaron un total de 81 casos. En 5 casos del total no se encontró expresión por IHQ (5.5%).

De esos 5 casos, en 3 casos oligodendroglioma grado II y en 2 casos fueron oligodendrogliomas grado III. No se ha podido definir un patrón molecular específico en estos 5 casos, todos tenían mutación de IDH y delección de 1p/19q, todos tenían mutación de TERT, p16 estaba expresado en 3 de ellos, en uno ausencia de expresión y en otro no se pudo determinar y en cuanto a ciclina D1, sólo en uno de esos cinco casos se encontró expresión de ciclina D1 (en un caso no se pudo determinar).

Nuestra serie corrobora los datos del escaso porcentaje en el que se produce esta pérdida de expresión de Rb. También hemos encontrado un caso donde no había expresión de Rb ni tampoco p16, viéndose afectados 2 puntos de la misma vía ^[50]. Appay et al no detectaron ningún caso de oligodendroglioma anaplásico con delección homocigota de Rb1.

La mediana de SLP y SG no ha sido alcanzada en estos pacientes.

En síntesis:

Se ha analizado una larga serie de pacientes con el diagnóstico de oligodendroglioma (se han incluido los grados II y III y los casos de oligoastrocitoma), durante un periodo de tiempo que abarca 37 años (de 1977 a 2014). Dicho de una forma esquemática, se ha reclasificado según la clasificación de la OMS 2016 aplicando criterios moleculares a todas las muestras tumorales. Se ha comparado la supervivencia en la cohorte inicial y la cohorte reclasificada, y se ha analizado el tratamiento de los pacientes al inicio y tras la primera recaída.

Asimismo, se ha analizado el impacto en la supervivencia de la reclasificación y de diversas alteraciones moleculares como p16, pRb y ciclina D1.

De una forma más detallada :

Los tumores oligodendrogliales son tumores poco frecuentes, como se ha podido constatar en nuestro trabajo. Su frecuencia es de un 3% en los oligodendrogliomas y

1.5% en los oligodendrogliomas anaplásicos de los tumores primarios malignos del SNC.

Nuestra serie inicial, diagnosticada por criterios morfológicos, ha permitido analizar datos generales de estos tumores:

- 1) Se confirma esta baja incidencia de estos tumores oligodendrogliales en su conjunto, correspondiendo a unos 5 casos nuevos al año.
- 2) Se ha podido constatar que es un tumor más frecuente en varones (60% de los casos) y la mediana de edad ha sido de 45 años. La localización más habitual ha sido en el lóbulo frontal (60%), seguido del lóbulo temporal (15%).
- 3) En cuanto al tratamiento, en esta serie inicial previo a la reclasificación, se ha podido objetivar que la cirugía había sido completa en un 47 % de los casos, indicando un esfuerzo importante para alcanzar una cirugía extensa en el mayor número de casos posible y la biopsia solo en un 7% de los casos. El tratamiento postoperatorio fue con RT en la mitad de los casos y quimioterapia en aproximadamente en un tercio de los casos. Las recomendaciones de tratamientos postoperatorios han ido cambiando a lo largo del tiempo en función de la evidencia científica.
- 4) En cuanto a la supervivencia, para los oligodendrogliomas de grado II la mediana de SLP ha sido de 5.95 años y la SG de 13.06 años y para los oligodendrogliomas de grado III la SLP ha sido de 4 años y la SG de 6 años. Estos datos están en consonancia con lo descrito en la literatura.

Otro dato que destacar es que hay una diferencia estadísticamente significativa entre la SG de los oligodendrogliomas de grado II y grado III en esta cohorte inicial, también de acuerdo con lo descrito en la literatura.

Posteriormente se ha reclasificado esta serie de casos con los criterios de la OMS de 2016. En esta cohorte reclasificada todos los casos cumplían el criterio de tener mutación de IDH y codelección de 1p/19q.

En esta cohorte reclasificada se ha podido observar:

- 1) Baja incidencia de estos casos reclasificados.
- 2) Mayor incidencia de los tumores de grado II que grado III. Mayor prevalencia en varones y mediana de edad de 45 años. Localización preferente en el lóbulo frontal

3) En cuanto al tratamiento, se ha realizado una resección completa en un 39% de los casos y sólo biopsia en un 5.5%. Tras la cirugía recibieron tratamiento con radioterapia y un 46%, con quimioterapia un 32% y ningún tratamiento un 38.5% de los casos.

Por lo tanto, vemos, de nuevo el impacto de una cirugía lo más amplia posible. así como las recomendaciones de tratamiento postoperatorio cambiante a lo largo de este periodo de tiempo.

4) En términos de supervivencia, la mediana de SG en el total de esta cohorte reclasificada fue de 12.73 años.

En este punto se ha encontrado una diferencia importante respecto a la cohorte inicial, y es que al comparar la supervivencia global para los pacientes con grado II y grado III, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas (mediana de SG para los oligodendrogliomas de grado II fue de 13.3 años y de 12 años para los oligodendrogliomas de grado III. Se ha encontrado, por tanto, que la clasificación molecular modifica el impacto del grado en el pronóstico.

5) Se ha analizado la evolución de los pacientes que cumplían los criterios moleculares de oligodendroglioma (cohorte reclasificada) y de la serie que quedó excluida por no cumplir estos criterios (denominada cohorte excluida). Las diferencias encontradas han sido estadísticamente significativas: de 13.35 años para la cohorte reclasificada y de 7.52 para la cohorte excluida. Aunque no hemos procedido a caracterizar desde el punto de vista molecular a esa cohorte excluida, posiblemente entre los casos de esta cohorte excluida haya diagnósticos que incluyan otro tipo de tumores diferentes al oligodendroglioma según la clasificación actual.

Además, se ha analizado la situación en el momento de la primera progresión de estos tumores:

1) la mayoría de los pacientes han recibido de nuevo algún tipo de tratamiento (solo un 9% no se había tratado) y los tratamientos recibidos son muy variados incluyendo cirugía, radioterapia y quimioterapia, dependiendo de la localización del tumor y del tratamiento recibido inicialmente.

2) la mediana de supervivencia en el total de la cohorte reclasificada, tras la primera progresión ha sido de 6 años. Se ha objetivado un empeoramiento progresivo de la supervivencia con cada progresión (mediana de 3 años de la primera a segunda progresión y 1.25 años de la segunda a la tercera progresión).

3) dentro de los casos diagnosticados inicialmente de bajo grado en los que se había dado una situación de progresión, en un 54% de los casos había datos radiológicos y/o anatomopatológicos de un mayor nivel de agresividad (transformación a grado III).

Por otra parte, se ha analizado los casos con diagnóstico morfológico de oligoastrocitoma. Estos casos han representado el 13% de la cohorte reclasificada y no se ha apreciado diferente evolución en relación con el resto de la cohorte reclasificada. Del total de pacientes con diagnóstico inicial de oligoastrocitoma el 30% se reclasificó con criterios moleculares de oligodendroglioma.

Posteriormente se realizó un análisis según el grado histológico.

En el caso del oligodendroglioma de grado II hemos localizado 59 casos. Los datos epidemiológicos siguen la misma línea de los descritos para el global de la cohorte. En cuanto al tratamiento quirúrgico, se ha realizado una cirugía completa en un 35% de casos y solo biopsia en 6.8%. Estos datos implican una cirugía más amplia de lo encontrado en otras publicaciones. Por otra parte, una cirugía completa se ha asociado a una mayor supervivencia, sin alcanzar la significación estadística.

La supervivencia global para los OD grado II fue de una mediana de 13.35 años. En cuanto a los tratamientos postoperatorios, se ha observado un beneficio para el tratamiento de quimio y radioterapia, sin alcanzar la significación estadística.

Los datos de supervivencia son similares a los de los estudios con tratamientos más intensivos de quimio y radioterapia, a pesar que el 50% de los casos no recibió ningún tratamiento en adyuvancia. De hecho, los pacientes sin tratamiento adyuvante mostraron una SLP de 7.13 años y SG 12.73 años. Todo esto en el contexto de una población donde el riesgo definido por criterios clínicos (>40 años o resección incompleta) lo cumplían el 79% de los casos. En nuestra opinión esto refuerza la importancia de la caracterización molecular en el pronóstico.

También se analizó de forma comparativa la evolución de los pacientes de bajo y alto riesgo clínico en los que se había realizado seguimiento y la mediana SLP fue de 6.19 y 8.44 años, respectivamente, indicando también la importancia de los aspectos moleculares sobre los criterios clínicos. En esta serie ya caracterizada por criterios moleculares, los criterios clínicos pierden impacto pronóstico.

En el caso de los oligodendrogliomas de grado III, se han identificado 32 casos. Los datos epidemiológicos de edad, sexo y localización siguen lo descrito en la cohorte general.

En cuanto al tratamiento quirúrgico, no se ha podido observar un impacto en supervivencia en función de la extensión de la cirugía, aunque hay que tener en cuenta que el tamaño muestral es pequeño y que un 50% se consideró resección completa; solo 1 paciente fue biopsiado como procedimiento quirúrgico. Todo ello, posiblemente hace difícil encontrar diferencias desde el punto de vista estadístico.

En los tratamientos postoperatorios, un 19% de los casos no recibieron ningún tipo de tratamiento (unas cifras inferiores al caso de los oligodendrogliomas de grado II, que fue del 50%), y en este caso hubo un mayor porcentaje de tratamiento más intensivos: 10% en los de grado II y grado III del 30%.

Revisado el impacto en la supervivencia según el tipo de tratamiento se ha podido observar, incluso en aquellos casos que no habían recibido ningún tipo de tratamiento adyuvante, una larga evolución, con SG de 12.27 años, lo cual indica el impacto pronóstico que pueda tener la clasificación molecular.

Para el resto de opciones de tratamiento, se ha podido apreciar un beneficio para el tratamiento más intensivo de quimio y radioterapia, sin alcanzar la significación estadística y también para los pacientes que reciben quimioterapia como parte del tratamiento adyuvante (que sí alcanzó la significación estadística). En nuestra serie se ha observado una peor evolución en aquellos casos tratados con RT en monoterapia (que también alcanzó la significación estadística). Nuestros datos de SG global para el tratamiento de RT en monoterapia han resultado inferiores a los de otros estudios publicados por lo que puede haber sesgos relacionados con el carácter retrospectivo y pequeño tamaño de la muestra.

Por último, hemos comparado la mediana de supervivencia de aquellos casos que no habían recibido tratamiento en el caso de los oligodendrogliomas de grado II y también los de grado III, que fue de 12.73 y 12.2 años retrospectivamente, apuntando de nuevo la importancia pronóstica de la clasificación molecular.

En cuanto al estudio molecular, por una parte, se ha revisado el propio proceso de reclasificación molecular. Ha habido un 52% de casos que han sido reclasificados desde los casos iniciales por criterios morfológicos. Los criterios fundamentales que

llevaron a esta reclasificación fueron la ausencia de mutación de IDH en un 14% de los casos y la ausencia de codeleción de 1p/19q en un 33.5% de los casos. Estos datos están en línea con otras publicaciones previas.

El papel de la técnica de NGS permitió detectar la codeleción de 1p/19q en un 30% de los casos analizados (10/30 casos), e indica la relevancia de ésta. Además, la NGS permite asegurar la consistencia de los datos moleculares ya que facilita diferentes resultados y permite cotejar diferentes resultados que pueden ir asociados o, por el contrario, sean mutuamente excluyentes.

El estudio molecular de la cohorte reclasificada indicó aproximadamente un 10% de mutación de IDH2 (en oligodendrogliomas de grado II 12% y en oligodendrogliomas de grado III en 6.3%).

La mutación del promotor de TERT se ha objetivado en un 88% de los casos (en oligodendrogliomas de grado II en un 83% y grado III en un 97%).

El tipo de mutación de TERT ha sido la C250 en 36% y C228 en un 52%).

No hemos encontrado que ninguno de estos datos tenga un impacto en el pronóstico.

En cuanto a la vía de las ciclinas:

En nuestra serie se ha encontrado ausencia de expresión de p16 tanto en los oligodendrogliomas grado II como grado III. En el 16% de los oligodendrogliomas grado II se encontró pérdida de expresión de p16. En los oligodendrogliomas de grado III esta pérdida de expresión ocurrió en un 32.1%. Además, esta pérdida de expresión, en nuestra serie, se asocia a una peor supervivencia global de forma estadísticamente significativa en los oligodendrogliomas de grado III (con mediana de SG de 4.76 años vs 17.49 años en ausencia vs presencia de expresión de p16) y también en el conjunto de los casos (grado II y grado III), donde la mediana de supervivencia pasaba de 9.03 a 13.35 años en ausencia vs presencia de p16, con una HR de 0.41. En el análisis de los oligodendrogliomas de grado II la diferencia no alcanzó la significación estadística (10.86 años vs 13.35 años).

Estos datos ponen en evidencia la existencia de la pérdida de expresión de p16 en estos tumores, así como su importancia pronóstica.

En cuanto a ciclina D1, también hemos analizado la expresión de la ciclina D1. Hemos encontrado expresión de ciclina D1 tanto en oligodendrogliomas grado II como grado III. Hemos objetivado una mayor expresión de ciclina D1 en los oligodendrogliomas de grado III. La ausencia de expresión en los oligodendrogliomas de grado II fue del 71% y la ausencia de expresión en los oligodendrogliomas de grado III fue del 32%.

También se ha analizado el valor pronóstico de la expresión de ciclina D1. Se ha considerado alta expresión de D1 cuando había expresión por encima del 25%. Se ha encontrado que existe una correlación entre esta sobreexpresión y un peor pronóstico, en el conjunto de la serie y en los oligodendrogliomas grado II (mediana de 6.31 años frente a 12.73 años). Por último, en esta vía de las ciclinas, se ha analizado por inmunohistoquímica la expresión de Rb y se ha observado su expresión en prácticamente todos los casos analizados, solo en 5 casos del total no se encontró expresión por IHQ (5.5%).

6. Conclusiones

- En la serie inicial diagnosticada por criterios morfológicos se han identificado 182 casos de oligodendroglioma.
- Posteriormente se ha reclasificado esta serie de casos con los criterios de la OMS de 2016 (con mutación de IDH y codeleción de 1p/19q). En esta cohorte reclasificada se han identificado 91 casos diagnosticados como oligodendrogliomas según estos criterios moleculares, en los que hemos verificado su efecto pronóstico:
 - Esta cohorte presenta características similares a la cohorte inicial en cuanto a afectación predominante en varones, edad, afectación y localización predominantemente frontal. También son similares los tratamientos administrados, tanto en la extensión de la cirugía como en los tratamientos postoperatorios.
 - Se ha comprobado el impacto pronóstico al introducir la clasificación molecular:

- El grado pierde su valor pronóstico: En la cohorte reclasificada, la mediana de supervivencia global para el oligodendroglioma grado II fue de 13.3 años y de 12 años para los oligodendrogliomas de grado III, sin diferencias estadísticamente significativas.
 - Sin embargo, en la cohorte inicial por criterios morfológicos, la mediana de supervivencia global fue de 13 años para los oligodendrogliomas de grado II y de 6 años para los oligodendrogliomas de grado III. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas.
 - Se han encontrado también medianas de supervivencia largas comparables a las publicadas en estudios donde se habían aplicado tratamientos postoperatorios más intensivos, a pesar que un 38% no recibía tratamientos postoperatorios y solo un 18% recibía quimio y radioterapia.
- Se ha realizado un estudio de la vía de las ciclinas, analizando la expresión de p16, pRb y ciclina D1, con resultado pronóstico:
- Se ha encontrado ausencia de expresión de p16 en 16% en grado II y en un 32% en grado III.
 - Esta pérdida de expresión de p16 se ha asociado a una peor supervivencia, de forma más clara en los oligodendrogliomas de grado III (mediana de supervivencia de 4.76 años vs 17.49 años, estadísticamente significativa).
 - La sobreexpresión de ciclina D1 se asoció aun peor pronóstico (mediana de supervivencia de 12.73 vs 6 años).

7. BIBLIOGRAFIA

1. Kros JM, van den Brink WA, van Loon-van Luyt JJ, Stefanko SZ. Signet-ring cell oligodendroglioma--report of two cases and discussion of the differential diagnosis. *Acta Neuropathol* 1997;93(6):638-43.
2. Kros JM, Van Eden CG, Stefanko SZ, Waayer-Van Batenburg M, van der Kwast TH. Prognostic implications of glial fibrillary acidic protein containing cell types in oligodendrogliomas. *Cancer* 1990;66(6):1204-12.
3. Miller CR, Dunham CP, Scheithauer BW, Perry A. Significance of necrosis in grading of oligodendroglial neoplasms: a clinicopathologic and genetic study of newly diagnosed high-grade gliomas. *J Clin Oncol* 2006;24(34):5419-26.
4. Giannini C, Scheithauer BW, Weaver AL, Burger PC, Kros JM, Mork S, et al. Oligodendrogliomas: reproducibility and prognostic value of histologic diagnosis and grading. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001;60(3):248-62.
5. 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):803-20.
6. Cancer Genome Atlas Research Network, Brat DJ, Verhaak RGW, Aldape KD, Yung WKA, Salama SR, et al. Comprehensive, Integrative Genomic Analysis of Diffuse Lower-Grade Gliomas. *N Engl J Med* 2015;372(26):2481-98.
7. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC-H, Leary RJ, Angenendt P, et al. An Integrated Genomic Analysis of Human Glioblastoma Multiforme. *Science* 2008;321(5897):1807-12.
8. Wang X-W, Ciccarino P, Rossetto M, Boisselier B, Marie Y, Desestret V, et al. IDH mutations: genotype-phenotype correlation and prognostic impact. *Biomed Res Int* 2014;2014:540236.
9. Watanabe T, Nobusawa S, Kleihues P, Ohgaki H. IDH1 mutations are early events in the development of astrocytomas and oligodendrogliomas. *Am J Pathol* 2009;174(4):1149-53.
10. Capper D, Reuss D, Schittenhelm J, Hartmann C, Bremer J, Sahm F, et al. Mutation-specific IDH1 antibody differentiates oligodendrogliomas and oligoastrocytomas from other brain tumors with oligodendroglioma-like morphology. *Acta Neuropathol* 2011;121(2):241-52.
11. Horbinski C. What do we know about IDH1/2 mutations so far, and how do we use it? *Acta Neuropathol* 2013;125(5):621-36.
12. Cairncross JG, Wang M, Jenkins RB, Shaw EG, Giannini C, Brachman DG, et al. Benefit from procarbazine, lomustine, and vincristine in oligodendroglial tumors is associated with mutation of IDH. *J Clin Oncol* 2014;32(8):783-90.
13. Cairncross G, Wang M, Shaw E, Jenkins R, Brachman D, Buckner J, et al. Phase III trial of chemoradiotherapy for anaplastic oligodendroglioma: long-term results of RTOG 9402. *J Clin Oncol* 2013;31(3):337-43.
14. 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):1473-9.
15. Ducray F, Idbah 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.
16. Noushmehr H, Weisenberger DJ, Diefes K, Phillips HS, Pujara K, Berman BP, et al. Identification of a CpG island methylator phenotype that defines a distinct

- subgroup of glioma. *Cancer Cell* 2010;17(5):510-22.
17. Kloosterhof NK, Bralten LBC, Dubbink HJ, French PJ, van den Bent MJ. Isocitrate dehydrogenase-1 mutations: a fundamentally new understanding of diffuse glioma? *Lancet Oncol* 2011;12(1):83-91.
 18. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al. IDH1 and IDH2 Mutations in Gliomas [Internet]. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa08087102009> [citado 2021 mar 30]; Available from: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa0808710>
 19. Turcan S, Rohle D, Goenka A, Walsh LA, Fang F, Yilmaz E, et al. IDH1 mutation is sufficient to establish the glioma hypermethylator phenotype. *Nature* 2012;483(7390):479-83.
 20. Fan H-C, Chen C-M, Chi C-S, Tsai J-D, Chiang K-L, Chang Y-K, et al. Targeting Telomerase and ATRX/DAXX Inducing Tumor Senescence and Apoptosis in the Malignant Glioma. *Int J Mol Sci* 2019;20(1).
 21. Dyer MA, Qadeer ZA, Valle-Garcia D, Bernstein E. ATRX and DAXX: Mechanisms and Mutations. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2017;7(3).
 22. Svien HJ, Mabon RF. A simplified classification of the gliomas, based on the concept of anaplasia. *Surg Clin North Am* 1949;29(4):1169-87.
 23. Daumas-Duport C, Scheithauer B, O'Fallon J, Kelly P. Grading of astrocytomas. A simple and reproducible method. *Cancer* 1988;62(10):2152-65.
 24. Louis DN, Wesseling P, Paulus W, Giannini C, Batchelor TT, Cairncross JG, et al. cIMPACT-NOW update 1: Not Otherwise Specified (NOS) and Not Elsewhere Classified (NEC). *Acta Neuropathol* 2018;135(3):481-4.
 25. Louis DN, Giannini C, Capper D, Paulus W, Figarella-Branger D, Lopes MB, et al. cIMPACT-NOW update 2: diagnostic clarifications for diffuse midline glioma, H3 K27M-mutant and diffuse astrocytoma/anaplastic astrocytoma, IDH-mutant. *Acta Neuropathol* 2018;135(4):639-42.
 26. Brat DJ, Aldape K, Colman H, Holland EC, Louis DN, Jenkins RB, et al. cIMPACT-NOW update 3: recommended diagnostic criteria for «Diffuse astrocytic glioma, IDH-wildtype, with molecular features of glioblastoma, WHO grade IV». *Acta Neuropathol* 2018;136(5):805-10.
 27. Ellison DW, Hawkins C, Jones DTW, Onar-Thomas A, Pfister SM, Reifenberger G, et al. cIMPACT-NOW update 4: diffuse gliomas characterized by MYB, MYBL1, or FGFR1 alterations or BRAFV600E mutation. *Acta Neuropathol* 2019;137(4):683-7.
 28. Brat DJ, Aldape K, Colman H, Figarella-Branger D, Fuller GN, Giannini C, et al. cIMPACT-NOW update 5: recommended grading criteria and terminologies for IDH-mutant astrocytomas. *Acta Neuropathol* 2020;139(3):603-8.
 29. Louis DN, Wesseling P, Aldape K, Brat DJ, Capper D, Cree IA, et al. cIMPACT-NOW update 6: new entity and diagnostic principle recommendations of the cIMPACT-Utrecht meeting on future CNS tumor classification and grading. *Brain Pathol* 2020;30(4):844-56.
 30. Ellison DW, Aldape KD, Capper D, Fouladi M, Gilbert MR, Gilbertson RJ, et al. cIMPACT-NOW update 7: advancing the molecular classification of ependymal tumors. *Brain Pathol* 2020;30(5):863-6.
 31. Weller M, van den Bent M, Tonn JC, Stupp R, Preusser M, Cohen-Jonathan-Moyal E, et al. European Association for Neuro-Oncology (EANO) guideline on the diagnosis and treatment of adult astrocytic and oligodendroglial gliomas. *Lancet Oncol* 2017;18(6):e315-29.
 32. Malumbres M. Cyclin-dependent kinases. *Genome Biol* 2014;15(6):122.

33. Hydring P, Malumbres M, Sicinski P. Non-canonical functions of cell cycle cyclins and cyclin-dependent kinases. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2016;17(5):280-92.
34. 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):4144-52.
35. Husemann K, Wolter M, Büschges R, Boström J, Sabel M, Reifenberger G. Identification of two distinct deleted regions on the short arm of chromosome 1 and rare mutation of the CDKN2C gene from 1p32 in oligodendroglial tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 1999;58(10):1041-50.
36. 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):1175-90.
37. Klihues MD, Leslie H, Sobin MD. Pathology and Genetics of Tumors of the Nervous System. World Health Organization Classification of Tumors. 2000.
38. Bigner SH, Matthews MR, Rasheed BK, Wiltshire RN, Friedman HS, Friedman AH, et al. Molecular genetic aspects of oligodendrogliomas including analysis by comparative genomic hybridization. *Am J Pathol* 1999;155(2):375-86.
39. 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):1473-9.
40. Bigner SH, Rasheed BK, Wiltshire R, McLendon RE. Morphologic and molecular genetic aspects of oligodendroglial neoplasms. *Neuro Oncol* 1999;1(1):52-60.
41. Miettinen H, Kononen J, Sallinen P, Alho H, Helen P, Helin H, et al. CDKN2/p16 predicts survival in oligodendrogliomas: comparison with astrocytomas. *J Neurooncol* 1999;41(3):205-11.
42. Godfraind C, Rousseau E, Ruchoux M-M, Scaravilli F, Vikkula M. Tumour necrosis and microvascular proliferation are associated with 9p deletion and CDKN2A alterations in 1p/19q-deleted oligodendrogliomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2003;29(5):462-71.
43. Figarella-Branger D, Mokhtari K, Dehais C, Jouvet A, Uro-Coste E, Colin C, et al. Mitotic index, microvascular proliferation, and necrosis define 3 groups of 1p/19q codeleted anaplastic oligodendrogliomas associated with different genomic alterations. *Neuro Oncol* 2014;16(9):1244-54.
44. Reyes-Botero G, Dehais C, Idbah A, Martin-Duverneuil N, Lahutte M, Carpentier C, et al. Contrast enhancement in 1p/19q-codeleted anaplastic oligodendrogliomas is associated with 9p loss, genomic instability, and angiogenic gene expression. *Neuro Oncol* 2014;16(5):662-70.
45. Appay R, Dehais C, Maurage C-A, Alentorn A, Carpentier C, Colin C, et al. CDKN2A homozygous deletion is a strong adverse prognosis factor in diffuse malignant IDH-mutant gliomas. *Neuro Oncol* 2019;21(12):1519-28.
46. Alentorn A, Dehais C, Ducray F, Carpentier C, Mokhtari K, Figarella-Branger D, et al. Allelic loss of 9p21.3 is a prognostic factor in 1p/19q codeleted anaplastic gliomas. *Neurology* 2015;85(15):1325-31.
47. Michaud K, de Tayrac M, D'Astous M, Paquet C, Gould PV, Saikali S. Impact of 9p deletion and p16, Cyclin D1, and Myc hyperexpression on the outcome of anaplastic oligodendrogliomas. *PLoS One* 2018;13(2):e0193213.
48. Fiano V, Ghimenti C, Schiffer D. Expression of cyclins, cyclin-dependent kinases and cyclin-dependent kinase inhibitors in oligodendrogliomas in humans. *Neurosci Lett* 2003;347(2):111-5.

49. Ciznadija D, Liu Y, Pyonteck SM, Holland EC, Koff A. Cyclin D1 and cdk4 mediate development of neurologically destructive oligodendroglioma. *Cancer Res* 2011;71(19):6174-83.
50. Watanabe T, Yokoo H, Yokoo M, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Concurrent inactivation of RB1 and TP53 pathways in anaplastic oligodendrogliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2001;60(12):1181-9.
51. Pallud J, Le Van Quyen M, Bielle F, Pellegrino C, Varlet P, Cresto N, et al. Cortical GABAergic excitation contributes to epileptic activities around human glioma. *Sci Transl Med* 2014;6(244):244ra89.
52. Chang EF, Potts MB, Keles GE, Lamborn KR, Chang SM, Barbaro NM, et al. Seizure characteristics and control following resection in 332 patients with low-grade gliomas. *J Neurosurg* 2008;108(2):227-35.
53. Sepúlveda-Sánchez JM, Muñoz Langa J, Arráez MÁ, Fuster J, Hernández Laín A, Reynés G, et al. SEOM clinical guideline of diagnosis and management of low-grade glioma (2017). *Clin Transl Oncol* 2018;20(1):3-15.
54. Aghi MK, Nahed BV, Sloan AE, Ryken TC, Kalkanis SN, Olson JJ. The role of surgery in the management of patients with diffuse low grade glioma: A systematic review and evidence-based clinical practice guideline. *J Neurooncol* 2015;125(3):503-30.
55. Kiliç T, Ozduman K, Elmaci I, Sav A, Necmettin Pamir M. Effect of surgery on tumor progression and malignant degeneration in hemispheric diffuse low-grade astrocytomas. *J Clin Neurosci* 2002;9(5):549-52.
56. Shaw EG, Berkey B, Coons SW, Bullard D, Brachman D, Buckner JC, et al. Recurrence following neurosurgeon-determined gross-total resection of adult supratentorial low-grade glioma: results of a prospective clinical trial. *J Neurosurg* 2008;109(5):835-41.
57. Bauman G, Fisher B, Watling C, Cairncross JG, Macdonald D. Adult supratentorial low-grade glioma: long-term experience at a single institution. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009;75(5):1401-7.
58. Youland RS, Brown PD, Giannini C, Parney IF, Uhm JH, Laack NN. Adult Low-grade Glioma 19-year Experience at a Single Institution. *Am J Clin Oncol* 2013;36(6):612-9.
59. Early prognostic factors related to progression and malignant transformation of low-grade gliomas- ClinicalKey [Internet]. [citado 2021 abr 1]; Available from: <https://www-clinicalkey-com.m-hryc.a17.csinet.es/#!/content/playContent/1-s2.0-S0303846711002344?returnurl=null&referrer=null>
60. Scheie D, Meling TR, Cvancarova M, Skullerud K, Mørk S, Lote K, et al. Prognostic variables in oligodendroglial tumors: a single-institution study of 95 cases. *Neuro Oncol* 2011;13(11):1225-33.
61. El-Hateer H, Souhami L, Roberge D, Maestro R del, Leblanc R, Eldebawy E, et al. Low-grade oligodendroglioma: an indolent but incurable disease?: Clinical article. *Journal of Neurosurgery* 2009;111(2):265-71.
62. Smith JS, Chang EF, Lamborn KR, Chang SM, Prados MD, Cha S, et al. Role of extent of resection in the long-term outcome of low-grade hemispheric gliomas. *J Clin Oncol* 2008;26(8):1338-45.
63. Sanai N, Berger MS. Glioma extent of resection and its impact on patient outcome. *Neurosurgery* 2008;62(4):753-64; discussion 264-266.
64. Kinslow CJ, Garton ALA, Rae AI, Marcus LP, Adams CM, McKhann GM, et al. Extent of resection and survival for oligodendroglioma: a U.S. population-based study. *J Neurooncol* 2019;144(3):591-601.

65. De Witt Hamer PC, Robles SG, Zwinderman AH, Duffau H, Berger MS. Impact of intraoperative stimulation brain mapping on glioma surgery outcome: a meta-analysis. *J Clin Oncol* 2012;30(20):2559-65.
66. National Comprehensive Cancer Network. Central Nervous System Cancers (version 4.2020). https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/cns.pdf.
67. van den Bent MJ, Afra D, de Witte O, Ben Hassel M, Schraub S, Hoang-Xuan K, et al. Long-term efficacy of early versus delayed radiotherapy for low-grade astrocytoma and oligodendroglioma in adults: the EORTC 22845 randomised trial. *Lancet* 2005;366(9490):985-90.
68. Karim ABMF, Afra D, Cornu P, Bleehan N, Schraub S, De Witte O, et al. Randomized trial on the efficacy of radiotherapy for cerebral low-grade glioma in the adult: European Organization for Research and Treatment of Cancer Study 22845 with the Medical Research Council study BRO4: an interim analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002;52(2):316-24.
69. Shaw E, Arusell R, Scheithauer B, O'Fallon J, O'Neill B, Dinapoli R, et al. Prospective randomized trial of low- versus high-dose radiation therapy in adults with supratentorial low-grade glioma: initial report of a North Central Cancer Treatment Group/Radiation Therapy Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study. *J Clin Oncol* 2002;20(9):2267-76.
70. Karim AB, Maat B, Hatlevoll R, Menten J, Rutten EH, Thomas DG, et al. A randomized trial on dose-response in radiation therapy of low-grade cerebral glioma: European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Study 22844. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;36(3):549-56.
71. Kiebert GM, Curran D, Aaronson NK, Bolla M, Menten J, Rutten EH, et al. Quality of life after radiation therapy of cerebral low-grade gliomas of the adult: results of a randomised phase III trial on dose response (EORTC trial 22844). EORTC Radiotherapy Co-operative Group. *Eur J Cancer* 1998;34(12):1902-9.
72. Klein M, Heimans JJ, Aaronson NK, van der Ploeg HM, Grit J, Muller M, et al. Effect of radiotherapy and other treatment-related factors on mid-term to long-term cognitive sequelae in low-grade gliomas: a comparative study. *Lancet* 2002;360(9343):1361-8.
73. Surma-aho O, Niemelä M, Vilkki J, Kouri M, Brander A, Salonen O, et al. Adverse long-term effects of brain radiotherapy in adult low-grade glioma patients. *Neurology* 2001;56(10):1285-90.
74. Shaw EG, Wang M, Coons SW, Brachman DG, Buckner JC, Stelzer KJ, et al. Randomized trial of radiation therapy plus procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy for supratentorial adult low-grade glioma: initial results of RTOG 9802. *J Clin Oncol* 2012;30(25):3065-70.
75. Baumert BG, Hegi ME, van den Bent MJ, von Deimling A, Gorlia T, Hoang-Xuan K, et al. Temozolomide chemotherapy versus radiotherapy in high-risk low-grade glioma (EORTC 22033-26033): a randomised, open-label, phase 3 intergroup study. *Lancet Oncol* 2016;17(11):1521-32.
76. Shaw EG, Berkey B, Coons SW, Bullard D, Brachman D, Buckner JC, et al. Recurrence following neurosurgeon-determined gross-total resection of adult supratentorial low-grade glioma: results of a prospective clinical trial. *J Neurosurg* 2008;109(5):835-41.
77. Fisher BJ, Hu C, Macdonald DR, Lesser GJ, Coons SW, Brachman DG, et al. Phase 2 study of temozolomide-based chemoradiation therapy for high-risk low-grade gliomas: preliminary results of Radiation Therapy Oncology Group 0424. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2015;91(3):497-504.

78. Wahl M, Phillips JJ, Molinaro AM, Lin Y, Perry A, Haas-Kogan DA, et al. Chemotherapy for adult low-grade gliomas: clinical outcomes by molecular subtype in a phase II study of adjuvant temozolomide. *Neuro Oncol* 2017;19(2):242-51.
79. Fujii Y, Muragaki Y, Maruyama T, Nitta M, Saito T, Ikuta S, et al. Threshold of the extent of resection for WHO Grade III gliomas: retrospective volumetric analysis of 122 cases using intraoperative MRI. *J Neurosurg* 2018;129(1):1-9.
80. Balañá C, Alonso M, Hernandez-Lain A, Hernandez A, Perez-Segura P, Pineda E, et al. SEOM clinical guidelines for anaplastic gliomas (2017). *Clin Transl Oncol* 2018;20(1):16-21.
81. Walker MD, Alexander E, Hunt WE, MacCarty CS, Mahaley MS, Mealey J, et al. Evaluation of BCNU and/or radiotherapy in the treatment of anaplastic gliomas. A cooperative clinical trial. *J Neurosurg* 1978;49(3):333-43.
82. Walker MD, Green SB, Byar DP, Alexander E, Batzdorf U, Brooks WH, et al. Randomized comparisons of radiotherapy and nitrosoureas for the treatment of malignant glioma after surgery. *N Engl J Med* 1980;303(23):1323-9.
83. Laperriere N, Zuraw L, Cairncross G, Cancer Care Ontario Practice Guidelines Initiative Neuro-Oncology Disease Site Group. Radiotherapy for newly diagnosed malignant glioma in adults: a systematic review. *Radiother Oncol* 2002;64(3):259-73.
84. Cairncross G, Macdonald D, Ludwin S, Lee D, Cascino T, Buckner J, et al. Chemotherapy for anaplastic oligodendroglioma. National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 1994;12(10):2013-21.
85. van den Bent MJ, Carpentier AF, Brandes AA, Sanson M, Taphoorn MJB, Bernsen HJJA, 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):2715-22.
86. 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):314-8.
87. van den Bent MJ, Brandes AA, Taphoorn MJB, Kros JM, Kouwenhoven MCM, Delattre J-Y, et al. Adjuvant procarbazine, lomustine, and vincristine chemotherapy in newly diagnosed anaplastic oligodendroglioma: long-term follow-up of EORTC brain tumor group study 26951. *J Clin Oncol* 2013;31(3):344-50.
88. Dubbink HJ, Atmodimedjo PN, Kros JM, French PJ, Sanson M, Idbaih A, et al. Molecular classification of anaplastic oligodendroglioma using next-generation sequencing: a report of the prospective randomized EORTC Brain Tumor Group 26951 phase III trial. *Neuro Oncol* 2016;18(3):388-400.
89. van den Bent MJ, Erdem-Eraslan L, Idbaih A, de Rooi J, Eilers PHC, Spliet WGM, et al. MGMT-STP27 methylation status as predictive marker for response to PCV in anaplastic Oligodendrogliomas and Oligoastrocytomas. A report from EORTC study 26951. *Clin Cancer Res* 2013;19(19):5513-22.
90. Cairncross JG, Wang M, Jenkins RB, Shaw EG, Giannini C, Brachman DG, et al. Benefit from procarbazine, lomustine, and vincristine in oligodendroglial tumors is associated with mutation of IDH. *J Clin Oncol* 2014;32(8):783-90.
91. Lassman AB, Iwamoto FM, Cloughesy TF, Aldape KD, Rivera AL, Eichler AF, et al. International retrospective study of over 1000 adults with anaplastic oligodendroglial tumors. *Neuro Oncol* 2011;13(6):649-59.
92. Wick W, Roth P, Hartmann C, Hau P, Nakamura M, Stockhammer F, et al. Long-term analysis of the NOA-04 randomized phase III trial of sequential

- radiochemotherapy of anaplastic glioma with PCV or temozolomide. *Neuro Oncol* 2016;18(11):1529-37.
93. Vogelbaum MA, Hu C, Peereboom DM, Macdonald DR, Giannini C, Suh JH, et al. Phase II trial of pre-irradiation and concurrent temozolomide in patients with newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas and mixed anaplastic oligoastrocytomas: long term results of RTOG BR0131. *J Neurooncol* 2015;124(3):413-20.
94. Vogelbaum MA, Hu C, Peereboom DM, Macdonald DR, Giannini C, Suh JH, et al. Phase II trial of pre-irradiation and concurrent temozolomide in patients with newly diagnosed anaplastic oligodendrogliomas and mixed anaplastic oligoastrocytomas: long term results of RTOG BR0131. *J Neurooncol* 2015;124(3):413-20.
95. 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):1473-9.
96. Jaeckle KA, Ballman KV, van den Bent M, Giannini C, Galanis E, Brown PD, et al. CODEL: phase III study of RT, RT + TMZ, or TMZ for newly diagnosed 1p/19q codeleted oligodendroglioma. Analysis from the initial study design. *Neuro Oncol* 2021;23(3):457-67.
97. Montgomery JL, Sanford LN, Wittwer CT. High-resolution DNA melting analysis in clinical research and diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2010;10(2):219-40.
98. D'Haene N, Meléndez B, Blanchard O, De Nève N, Lebrun L, Van Campenhout C, et al. Design and Validation of a Gene-Targeted, Next-Generation Sequencing Panel for Routine Diagnosis in Gliomas. *Cancers (Basel)* 2019;11(6).
99. Cantero D, Mollejo M, Sepúlveda JM, D'Haene N, Gutiérrez-Guamán MJ, Rodríguez de Lope Á, et al. TP53, ATRX alterations, and low tumor mutation load feature IDH-wildtype giant cell glioblastoma despite exceptional ultra-mutated tumors. *Neurooncol Adv* 2020;2(1):vdz059.
100. Ostrom QT, Patil N, Cioffi G, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2013-2017. *Neuro Oncol* 2020;22(12 Suppl 2):iv1-96.
101. Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005;64(6):479-89.
102. Scheie D, Meling TR, Cvancarova M, Skullerud K, Mørk S, Lote K, et al. Prognostic variables in oligodendroglial tumors: a single-institution study of 95 cases. *Neuro Oncol* 2011;13(11):1225-33.
103. M B, Gil M. Sistema Nervioso Central: tumores cerebrales. Barcelona: Permanyer;
104. Olson JD, Riedel E, DeAngelis LM. Long-term outcome of low-grade oligodendroglioma and mixed glioma. *Neurology* 2000;54(7):1442-8.
105. Burger PC. What is an oligodendroglioma? *Brain Pathol* 2002;12(2):257-9.
106. Shaw EG, Scheithauer BW, O'Fallon JR, Tazelaar HD, Davis DH. Oligodendrogliomas: the Mayo Clinic experience. *J Neurosurg* 1992;76(3):428-34.
107. Shaw EG, Scheithauer BW, O'Fallon JR. Supratentorial gliomas: a comparative study by grade and histologic type. *J Neurooncol* 1997;31(3):273-8.
108. Van den Bent MJ, Reni M, Gatta G, Vecht C. Oligodendroglioma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2008;66(3):262-72.

109. Dehghani F, Schachenmayr W, Laun A, Korf HW. Prognostic implication of histopathological, immunohistochemical and clinical features of oligodendrogliomas: a study of 89 cases. *Acta Neuropathol* 1998;95(5):493-504.
110. Olar A, Wani KM, Alfaro-Munoz KD, Heathcock LE, van Thuijl HF, Gilbert MR, et al. IDH mutation status and role of WHO grade and mitotic index in overall survival in grade II-III diffuse gliomas. *Acta Neuropathol* 2015;129(4):585-96.
111. Reuss DE, Mamatjan Y, Schrimpf D, Capper D, Hovestadt V, Kratz A, 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* 2015;129(6):867-73.
112. Lebrun C, Fontaine D, Ramaioli A, Vandebos F, Chanalet S, Lonjon M, et al. Long-term outcome of oligodendrogliomas. *Neurology* 2004;62(10):1783-7.
113. Sahm F, Reuss D, Koelsche C, Capper D, Schittenhelm J, Heim S, et al. Farewell to oligoastrocytoma: in situ molecular genetics favor classification as either oligodendroglioma or astrocytoma. *Acta Neuropathol* 2014;128(4):551-9.
114. Kim S-I, Lee Y, Won J-K, Park C-K, Choi SH, Park S-H. Reclassification of Mixed Oligoastrocytic Tumors Using a Genetically Integrated Diagnostic Approach. *J Pathol Transl Med* 2018;52(1):28-36.
115. Valera-Melé M, Mateo Sierra O, Sola Vendrell E, Guzmán de Villoria L JA, Carvajal Díaz L, Gil de Sagredo Del Corral ÓL, et al. Assessment of the impact of glioma diagnostic reclassification following the new 2016 WHO classification on a series of cases. *Neurocirugia (Astur)* 2019;30(1):19-27.
116. Ohgaki H, Kleihues P. Population-based studies on incidence, survival rates, and genetic alterations in astrocytic and oligodendroglial gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2005;64(6):479-89.
117. Hartmann C, Meyer J, Bals 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):469-74.
118. Godfraind C, Rousseau E, Ruchoux M-M, Scaravilli F, Vikkula M. Tumour necrosis and microvascular proliferation are associated with 9p deletion and CDKN2A alterations in 1p/19q-deleted oligodendrogliomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2003;29(5):462-71.
119. Reis GF, Pekmezci M, Hansen HM, Rice T, Marshall RE, Molinaro AM, et al. CDKN2A loss is associated with shortened overall survival in lower-grade (World Health Organization Grades II-III) astrocytomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 2015;74(5):442-52.
120. Purkait S, Jha P, Sharma MC, Suri V, Sharma M, Kale SS, et al. CDKN2A deletion in pediatric versus adult glioblastomas and predictive value of p16 immunohistochemistry. *Neuropathology* 2013;33(4):405-12.
121. Rao LS, Miller DC, Newcomb EW. Correlative immunohistochemistry and molecular genetic study of the inactivation of the p16INK4A genes in astrocytomas. *Diagn Mol Pathol* 1997;6(2):115-22.
122. Burns KL, Ueki K, Jung SL, Koh J, Louis DN. Molecular genetic correlates of p16, cdk4, and pRb immunohistochemistry in glioblastomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 1998;57(2):122-30.
123. Shirahata M, Ono T, Stichel D, Schrimpf D, Reuss DE, Sahm F, et al. Novel, improved grading system(s) for IDH-mutant astrocytic gliomas. *Acta Neuropathol* 2018;136(1):153-66.

Anexo 1

HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO **INFORMADO**

Título del estudio: Alteraciones moleculares en tumores oligodendrogiales.

Investigador principal (Nombre, servicio, forma de localizarle)

M^a Angeles Vaz Salgado. Servicio de oncología médica. Telefono 913368215

Centro Hospital Ramón y Cajal

INTRODUCCIÓN

Nos dirigimos a usted para informarle sobre el desarrollo del estudio en el que se le propone participar. Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación.

Su participación es voluntaria y puede revocar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento sin que por ello se altere la relación con su médico ni se produzca perjuicio en sus cuidados médicos. En caso de retirar el consentimiento para participar en el estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos y puede exigir la destrucción de todas las muestras identificables previamente retenidas para evitar la realización de un nuevo análisis.

FUNDAMENTO

El estudio que se va a llevar a cabo es un estudio promovido por un investigador con el fin de mejorar los conocimientos biológicos del cáncer.

El objetivo final del estudio es saber las alteraciones moleculares que se producen en el **oligodendroglioma**, y para ello se va a realizar un análisis del tejido tumoral extraído en el momento en que se realizó la cirugía, incluido en parafina. El conocimiento de las

alteraciones a nivel molecular de esta enfermedad poco frecuente tiene por objetivo último ampliar en un futuro las posibilidades terapéuticas para estos pacientes.

BENEFICIOS ESPERADOS E INCONVENIENTES

Los datos obtenidos del análisis de este estudio permitirán un mejor conocimiento del origen y desarrollo de los tumores y en concreto de los tumores oligodendrogiales, así como su posible comportamiento biológico. Los inconvenientes que pueden derivar de la realización de esta recogida y análisis de datos se relacionan con la posibilidad de necesitar contactar con el paciente para recabar nuevos datos.

No es esperable que el paciente obtenga ningún tipo de beneficio directo, que no sea el derivado de la ampliación de conocimientos de esta enfermedad.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

La participación en el estudio es voluntaria.

El procedimiento para el estudio consiste en el análisis de posibles alteraciones moleculares que se estudiarán en el tejido incluido en parafina extraído tras la cirugía. Por otra parte también se recogerán datos clínicos, de forma anónima, sobre la evolución y tratamientos recibidos.

Este estudio molecular no implica ningún otro examen, ni intervención, ni otro procedimiento médico, ni otra molestia ni ningún otro riesgo adicional para Vd.

En lo referente al tratamiento de las muestras se seguirá lo establecido en la Ley 14/2007 de Investigación Biomédica y el RD 17161/2011 que regula el régimen de utilización y almacenamiento de las muestras.

El responsable, en cuanto al tratamiento de las muestras, será el Investigador Principal y los médicos del Servicio de Anatomía Patológica implicados también en este proyecto de investigación. El tiempo de almacenamiento de las muestras será hasta la publicación de los resultados del estudio que se estima en unos 24 meses. Las muestras se almacenarán durante el estudio, en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital 12 de Octubre, lugar donde se desarrollará el estudio a nivel molecular y una vez concluido éste se devolverán al archivo de Anatomía Patológica del hospital y seguirá

el proceso de habitual de almacenamiento de muestras. Para información en este sentido, podrá contactar con el Investigador Principal del estudio.

El número total estimado de participantes en el estudio serán unos 160 (datos del Hospital Ramón y Cajal y del hospital 12 de Octubre de Madrid).

Por otra parte, se solicita también la colaboración para además del proyecto actual, poder utilizar la muestra para usos futuros, lo cual se especifica de forma explícita en el consentimiento informado.

INFORMACION SOBRE LOS RESULTADOS

Cualquier nueva información referente a los datos extraídos del estudio, que se descubra durante su participación, le será comunicada.

CONFIDENCIALIDAD

La confidencialidad y privacidad serán respetadas. Ningún tipo de información que pueda revelar su identidad será publicada sin su consentimiento específico. Su identidad no será empleada en ningún informe del análisis. En los registros que partan de este centro será identificado solamente por un código.

La base de datos que se confeccione no contendrá datos relativos a la identificación y domicilio de los pacientes. Estos datos estarán relacionados con un orden numérico en otra base de datos que será guardada por el investigador principal.

Las muestras de tejido tumoral a analizar serán anonimizadas: Todas las muestras que se obtengan para el estudio serán codificadas de forma que no sea posible su identificación y no será posible establecer de nuevo el nexo con sus datos personales.

Todos los datos recogidos para el estudio, procedentes de su Historia Clínica o facilitados por usted mismo, serán tratados con las medidas de seguridad establecidas en cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal. Debe saber que tiene derecho de acceso, rectificación y cancelación de los mismos en cualquier momento. Sólo aquellos datos de la historia clínica que estén relacionados con el estudio serán objeto de comprobación. Esta comprobación la realizará el Investigador Principal/Investigadores Colaboradores, responsables de garantizar la confidencialidad de todos los datos de las historias clínicas pertenecientes

a los sujetos participantes en el estudio. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y sólo el investigador principal/colaboradores podrán relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica.

No obstante, usted puede ejercitar los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición comunicándolo por escrito al Servicio de Oncología Médica del hospital Ramón y Cajal.

En caso de necesitar cualquier información o por cualquier otro motivo no dude en contactar con los investigadores principales del estudio en el teléfono 913368263 Así mismo, en caso de dudas respecto a sus derechos debe dirigirse al Servicio de Atención al Paciente del hospital.

Firma del paciente

Firma del investigador:

Para el proyecto actual y posible usos futuros

Solo para el proyecto actual

Nombre:

Nombre:

Fecha:

Fecha:

Este documento se firmará por duplicado quedándose una copia el investigador y otra el paciente

MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO

Título del Estudio:

Código de protocolo:

Yo (nombre y apellidos)

.....
He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con:

.....
(nombre del investigador)

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

FECHA :

FIRMA DEL PARTICIPANTE

Para el proyecto actual

Para el proyecto actual y posibles

usos futuros

FECHA :

FIRMA DEL INVESTIGADOR

MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO

Título del Estudio:

Alteraciones moleculares en tumores oligodendrogiales.

Código de protocolo:

Yo (nombre y apellidos)

.....
He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con:

.....
(nombre del investigador)

Comprendo que la participación del paciente es voluntaria.

Comprendo que puede retirarse del estudio:

1º Cuando quiera

2º Sin tener que dar explicaciones.

3º Sin que esto repercuta en sus cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

FECHA:

FIRMA DEL REPRESENTANTE LEGAL/TESTIGO

Para el proyecto actual

Para el proyecto actual y posibles usos futuros

FECHA:

FIRMA DEL INVESTIGADOR