

# Biomarcadores moleculares y genómica en tumores del Sistema Nervioso Central

Alfonso Berrocal

RUTINARIO 

RECOMENDABLE 

INVESTIGACIÓN 

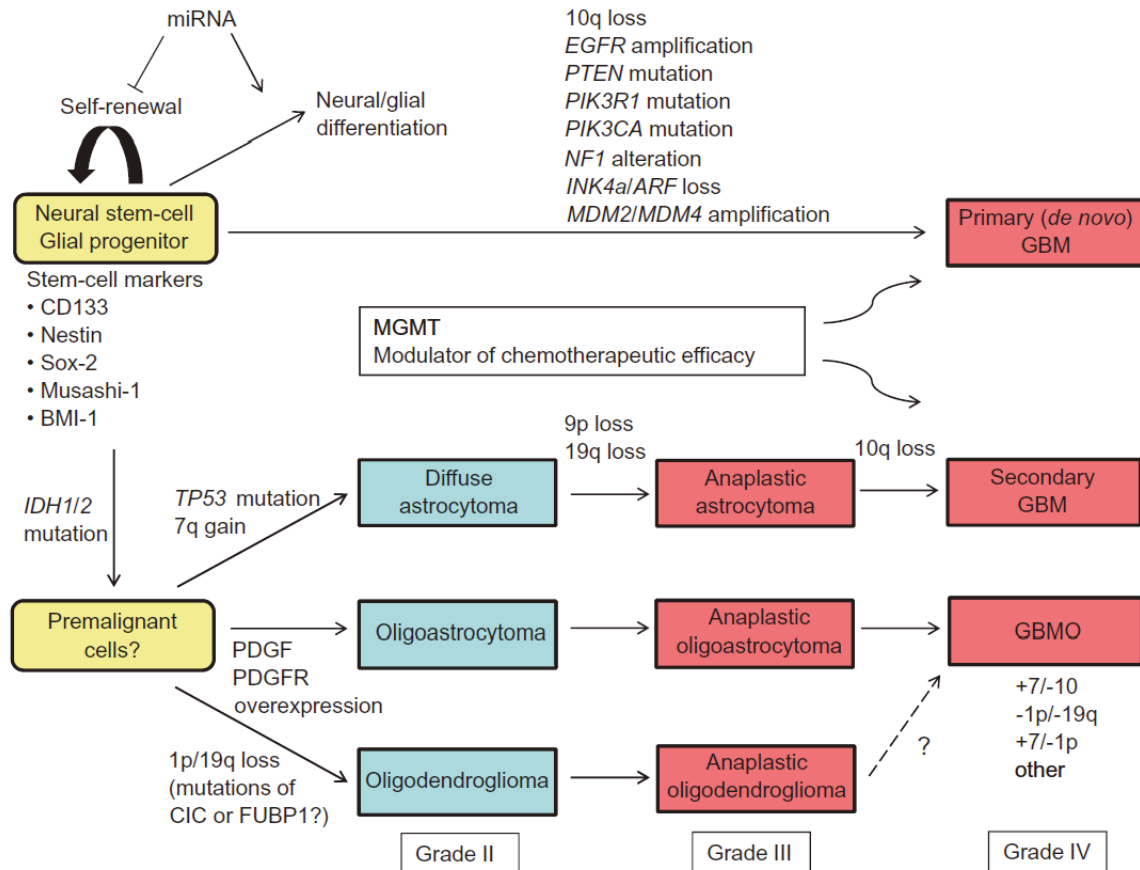
<ul style="list-style-type: none"><li>• 1p19q</li><li>• Mutación IDH1/2</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• MGMT</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 10q</li><li>• VEGFR</li><li>• P53</li><li>• EGFR</li><li>• PTEN</li><li>• p16INK4a/RB1</li></ul>
---	--	--

## INTRODUCCIÓN

Actualmente, la clasificación histológica es determinante para el diagnóstico de los tumores del sistema nervioso central, y ésta establece una gradación o escala de malignidad como predictor de su comportamiento biológico. El diagnóstico exige tener presente que ciertos tumores se vinculan a una localización específica y a una edad particular y, por ello, estos datos clínicos estrechan considerablemente el rango de posibilidades diagnósticas. Para ello usamos una nomenclatura uniforme, como la clasificación de la Organización Mundial de la Salud, ya adoptada en todo el mundo, y que es el resultado de un consenso satisfactorio que reúne criterios de clasificaciones histológicas y pronósticas. Este sistema de clasificación establece grados de malignidad para cada entidad, en lugar de un sistema de estadiaje. (1)

A lo largo de los últimos años ha habido una explosión de conocimientos acerca de las alteraciones moleculares que subyacen en los tumores del sistema central, que ha dado lugar a la aparición de biomarcadores que tienen un valor predictivo y que desempeñan un papel cada vez más importante en el desarrollo del diagnóstico y el pronóstico. El estudio de biomarcadores, tanto proteómicos como moleculares, debe ser complementario del estudio histopatológico y permite, en ocasiones, determinar factores predictivos o la determinación de vías afectas que puedan convertirse en dianas terapéuticas selectivas. Los gliomas infiltrantes difusos son las neoplasias cerebrales primarias más frecuentes, y es precisamente en este grupo donde se han descubierto múltiples e importantes alteraciones moleculares; alteraciones que constituyen marcadores específicos que, integrados en la información clínica y contexto anatomopatológico, añaden información relevante y de gran valor para el diagnóstico, pronóstico y manejo del paciente. Aunque las implicaciones clínicas de estos biomarcadores deben ser determinados en estudios prospectivos, un número creciente de biomarcadores candidatos han sido investigados. (2)

K. Masui et al.



## BIOMARCADORES RUTINARIOS

### CODELECCIÓN 1p/19q

Los tumores oligodendrogliales presentan frecuentemente pérdida de heterocigosidad en el brazo corto del cromosoma 1 (1p) y el brazo largo del cromosoma 19 (19q), representando la codelección de 1p y 19q con pérdida del brazo completo, un marcador genético de la mayoría de estos tumores. Dada la alta especificidad de este patrón de codelección, resulta útil como marcador diagnóstico y puede ayudar a diferenciar éstas de otras neoplasias morfológicamente parecidas. (3)

Las pérdidas de 1p y 19q se detectan en hasta el 90 % de los oligodendrogliomas y 50-70 % de oligodendrogliomas anaplásicos, mientras que en el 30-50% de oligoastrocitos, 20-30 % de gliomas anaplásicos GIII, y menos de 10 % de los gliomas astrocíticos difusos, incluyendo el glioblastoma multiforme. (4)(5)

Uno de los hallazgos notables con 1p/19q es la respuesta favorable a la quimioterapia en los tumores oligodendrogliales con esta codelección (6). Tres ensayos clínicos aleatorizados

han demostrado que los pacientes con tumores con la codeleción 1p/19q viven más tiempo cuando reciben radioterapia o quimioterapia con fármacos alquilantes o ambos (7) (8) (9). El papel de la pérdida 1p/19q confirma el papel pronóstico y posiblemente predictivo de estos marcadores en el contexto de la quimioterapia de primera línea (10) (11), aunque su relación con la quimioterapia de segunda línea es menos clara (12) (13). En contraste con los oligodendrogliomas, la frecuencia de deleciones 1p/19q entre glioblastoma multiforme es baja, y cualquier asociación con el resultado a las terapias es complejo, siendo los resultados de los que disponemos contradictorios, así, no parecen asociarse con buena supervivencia en una serie publicada de pacientes con glioblastoma multiforme (14), pero en otro estudio algunos supervivientes a largo plazo con glioblastoma multiforme mostraron pérdida combinada de 1p y 19q. (15)

Actualmente no se considera un factor predictivo de respuesta a un tipo específico de terapia, sino que mejora la respuesta terapéutica en general, al margen de su tipo. Los mecanismos de esta mayor sensibilidad terapéutica de los tumores con codeleción 1p/19q, como hemos dicho, no están claros.

Se usan diversas técnicas para esta determinación, generalmente, la pérdida de 1p/19q se ha evaluado con ensayos basados en la PCR (16) o hibridación in situ fluorescente (FISH) (17). En la actualidad la más extendida es la de FISH, por ser muy fiable si se toman algunas precauciones que tengan en cuenta la posibilidad de falsos positivos técnicos. Esto puede ocurrir con algunas sondas comerciales que tienen sensibilidad máxima, pero menor especificidad, debido a que solamente la deleción del brazo completo se relaciona con un pronóstico mejor. La codeleción 1p/19q, cuando está presente, es un acontecimiento precoz en la génesis del glioma y se ve en la mayoría de las células tumorales, incluso en aquéllas de aspecto astrocitario de los oligoastrocitomas; sin embargo, es mucho más frecuente en los tumores con morfología clásica oligodendroglioma. (18)(19)(20)

#### **RECOMENDACIÓN:**

*Se debe determinar la codeleción de 1p/19q en todos los tumores de origen oligodendroglioma ya sea en el momento del diagnóstico o en la recidiva.*

#### **MUTACIÓN IDH1/2:**

En gliomas difusos grado II y III, se han detectado recientemente mutaciones en el gen de la isocitrato dehidrogenasa dependiente de NADP citosólico (IDH1), siendo la incidencia descrita de este hecho del 50-80% en los astrocitomas, oligodendrogliomas, oligoastrocitomas y GBM secundarios, mientras que es muy rara en los GBM primarios, astrocitomas pilocíticos, tumores ependimarios u otros. Posteriormente se han descrito las mutaciones de la isocitrato deshidrogenasa dependiente de NADP mitocondrial en alrededor del 3% de los gliomas (IDH2). (21)

El gen IDH1, localizado en el cromosoma 2q33, codifica una enzima que cataliza la carboxilación oxidativa de isocitrato a alfa- ketoglutarato, lo que resulta en la reducción de NADP a NADPH. En el cromosoma 15q26, IDH2 produce una enzima que juega el mismo papel en la mitocondria (22). La mutación IDH1/2 puede disminuir la cantidad de NADPH necesario para la protección celular contra el estrés oxidativo y producir una disminución en alfa-ketoglutarato que degrada HIF-1-alfa, promotor del crecimiento tumoral y la angiogénesis (23)(24). Pero, a pesar de su potencial tumorigénico, mutaciones en IDH1 / 2 están asociadas con la edad del paciente joven, GBM secundario y mayor supervivencia global. (25)

Las mutaciones de IDH1 son heterocigotas, de origen somático y afectan al codón 132 en la gran mayoría de los casos. El desarrollo de un anticuerpo muy específico de la mutación IDH1 R132H (clon H09), útil para el tejido incluido en parafina, permite fácil y rutinariamente el estudio de la mutación (26). El conocimiento del estatus del IDH1 es de gran valor diagnóstico y tiene, además, relevancia clínica.

En cuanto a lo primero, su utilidad es máxima en el diagnóstico diferencial de oligodendrogliomas con otros tumores de rasgos histológicos parecidos de tipo neuronal o ependimario, en la distinción de gliosis reactivas o en discernir infiltración neoplásica sutil en muestras con tejido escaso. Mutaciones IDH1 parecen encontrarse casi exclusivamente en gliomas grado II y III y en GBMs secundarios que surgen de ellos. Más del 80 % de GBMs secundarios poseen una mutación IDH1. También muestran altas frecuencias de mutación IDH1 gliomas anaplásicos (astrocitoma anaplásico: 69.2 % y oligodendroglioma anaplásico: 86,1 %). En contraste, las mutaciones IDH1 y IDH2 rara vez se detectan en GBMs primarios, con una frecuencia de 3-7 %. (27)(28)

Desde el punto de vista clínico, en varias series grandes se estudiaron el estado de la mutación IDH1 en astrocitomas grado III y GBM, y comprobaron que la presencia o no de la mutación tiene valor pronóstico. En estas series, estos tumores se clasifican de mejor a peor pronóstico de la siguiente forma: astrocitoma grado III con mutación, GBM con mutación, astrocitoma grado III sin mutación y GBM sin mutación. Un estudio reciente evidencia el valor pronóstico para la supervivencia global de los pacientes con mutación IDH1/2 (29). La nueva clasificación de la OMS tiene en cuenta la presencia de este marcador molecular en todos los tumores astrocitarios y oligodendrogliales ya que separan grupos de pronóstico muy diferenciado (30)(31).

### RECOMENDACIÓN

*Las mutaciones en IDH-1/IDH-2 están presentes en gliomas II y III y en glioblastomas secundarios, pero no en los primarios. Se debe emplear como marcador diagnóstico y como marcador de buen pronóstico de los pacientes con tumores astrocitarios u oligodendrogliales.*

## BIOMARCADORES RECOMENDABLES

### METILACIÓN DE MGMT:

El gen que codifica la metilguanidina-ADN metiltransferasa (MGMT), localizado en 10q26, es uno de los marcadores moleculares más estudiados en neurooncología en la última década, por la asociación entre la hipermetilación del promotor MGMT y la respuesta a los agentes alquilantes. (32)

La frecuencia publicada de esta hipermetilación en gliomas varía ampliamente desde el 35-73% en los glioblastomas, siendo de alrededor del 40% en los primarios y de hasta el 70% en los secundarios, del 50-84% en los astrocitomas difusos de grado III y el 43-93% en los astrocitomas difusos de grado II. (33)(34)(35)

El amplio rango de estos resultados se debe, en parte, a los grandes desafíos técnicos que exige esta determinación. Los métodos para el análisis de MGMT son muchos, y algunos requieren gran tecnología y experiencia, lo que ha dado lugar repetidamente a resultados divergentes en diferentes laboratorios para el mismo tumor, así como a una gran dificultad en evaluar las tasas de concordancia entre laboratorios. Para evitar dudas acerca de la calidad de los test de MGMT se requiere una estandarización metodológica a nivel general. (36)

El estado de MGMT puede ser probado por reacción en cadena de la polimerasa específica de metilación (MS - PCR), que se basa en la conversión de bisulfito de las citosinas no metiladas en uracilos, esta técnica se puede realizar en parafina y permite la cuantificación con un alto rendimiento (37). También han surgido otras técnicas, incluyendo la metilación específica de pirosecuenciación (38) y la MLPA específica de metilación(39). Desgraciadamente la técnica más sencilla, la inmunohistoquímica, tiene un valor muy controvertido. (40)

La metilación de MGMT aumenta la sensibilidad a uno de los agentes alquilantes más utilizados para GBM, la temozolomida (TMZ), que daña el ADN por metilación de la posición O - 6 de la guanina. La relación entre MGMT y TMZ fue revelado por un estudio prospectivo como un factor predictivo fuerte e independiente para los pacientes con GBM (41). Estudios posteriores confirmaron que el promotor MGMT hipermetilado también puede ser un factor pronóstico para los pacientes con GBM, incluyendo pacientes de edad avanzada. (42)(43)(44)

Las más importantes series clínicas estudiadas en la pasada década han mostrado que los pacientes con GBM e hipermetilación del promotor MGMT muestran índices de supervivencia del 49 y el 14% a los dos y cinco años, respectivamente, cuando se han utilizado tratamientos concomitantes y adyuvantes con temozolomida y radioterapia. El 24 y el 5% de pacientes tenían supervivencias de dos y cinco años si se trataban sólo con radioterapia. Por otra parte, los pacientes con GBM sin hipermetilación de MGMT tuvieron porcentajes del 15 y el 8% de supervivencia a los dos y cinco años, respectivamente, tras

recibir radio y quimioterapia combinadas, y sólo del 2 y el 0% si se trataban exclusivamente con radioterapia. (45)(46)(47)

Muchos de estos estudios han confirmado la observación de que la hipermetilación de MGMT es uno de los factores pronósticos más importantes para pacientes con GBM, como potente predictor de la respuesta al tratamiento con agentes alquilantes. Sin embargo, su papel en el manejo del paciente es más dudoso, dado que la temozolomida es un fármaco oral bien tolerado del que se benefician incluso los pacientes afectados de GBM sin metilación, hecho que condiciona que la mayoría de los neurooncólogos, en ausencia de otras alternativas, opten por tratar a sus pacientes con este fármaco, al margen del estatus del MGMT. (48)

### RECOMENDACIÓN

*La ausencia de alternativa terapéutica y las dificultades de reproductibilidad de resultados han impedido su generalización como procedimiento diagnóstico limitándose su utilidad a la estratificación en los ensayos clínicos.*

## BIOMARCADORES EN INVESTIGACIÓN

### PÉRDIDA DE HETEROCIGOSIDAD 10q:

La pérdida de heterocigosidad 10q es la alteración genética encontrada con más frecuencia en los pacientes con glioblastomas, tanto primarios como secundarios, estando presente en un 60 a 80% de los casos. Por otra parte la pérdida de heterocigosidad 10p o la pérdida completa del cromosoma 10 son alteraciones que se ven más típicamente en los glioblastomas primarios. (49)

Se han identificado tres locus que se ven implicados con frecuencia en las deleciones, 10p 14-p15, 10q23-24 (PTEN) y 10q25-pter lo que sugiere la existencia de varios genes supresores de tumores involucrados en la patogénesis de los gliomas. La pérdida de heterocigosidad 10q25-pter se ha asociado a la transición histológica de los gliomas de bajo grado y astrocitomas anaplásicos a glioblastoma. Esta alteración es frecuente en los dos tipos de glioblastoma por lo que los genes asociados a este locus parece que están envueltos en la patogénesis de ambos tipos de tumor. Se han descrito diversos genes supresores de tumores en este locus, pero su papel permanece por aclarar ya que las mutaciones de estos genes han sido detectadas raras veces en los glioblastomas. (50)(51)

La pérdida de heterocigosidad 10q típicamente coexiste con otras alteraciones genéticas del glioblastoma como las mutaciones de TP53 o PTEN o la amplificación de EGFR. Esta observación sugiere que para el desarrollo de un glioblastoma hace falta la pérdida de heterocigosidad 10q más una o más alteraciones genéticas. En el desarrollo del glioblastoma secundario la pérdida de heterocigosidad 10q ocurre de forma tardía, siendo la pri-



mera alteración las mutaciones de TP53. En el glioblastoma primario la secuencia de alteraciones genéticas es desconocida. (50)

La pérdida de heterocigosidad en el cromosoma 10q se ha asociado con una menor supervivencia de los pacientes con GBM (52), y en un estudio de 25 casos de GBM en pacientes de la India, se observó con mayor frecuencia en pacientes de edad avanzada (53). La pérdida de heterocigosidad puede por tanto tener implicaciones pronósticas, pero hasta la fecha no se han guiado las opciones de tratamiento.

#### VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR (VEGF):

Los tumores cerebrales se cuentan entre los más vascularizados del organismo por lo que en su crecimiento necesitan mantener una constante angiogénesis. El principal mediador de la angiogénesis en los glioblastomas es el VEGF que es inducido por la hipoxia a través de HIF-1 (factor inducible por la hipoxia). Este ligando tiene varios receptores a los que se puede unir y dos de ellos, el VEGFR-1 y el VEGFR-3, están sobreexpresados en las células endoteliales de astrocitomas, oligodendrogliomas anaplásicos y ependimomas. Al ser más frecuente la necrosis en los glioblastomas primarios, estos presentan mayores niveles de HIF-1 y por tanto de VEGF. (54)

El PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas) es un dímero constituido por dos cadenas A y B que es capaz de unirse a dos receptores celulares de superficie, PDGFR- $\alpha$  y el PDGFR- $\beta$ , que tienen actividad tirosina quinasa. La sobreexpresión de PDGFR- $\alpha$  se encuentra en tumores de alto y bajo grado y está relacionada con la proliferación celular, tanto en estadios tempranos como avanzados, en cambio, la amplificación de este gen es infrecuente. Algunos hallazgos sugieren que la amplificación y sobreexpresión de PDGFR- $\alpha$  es más frecuente en los glioblastomas secundarios. (54)

Por tanto, podemos decir que la neovascularización es un sello neuropatológico en los gliomas de alto grado y que los factores angiogénicos puede desempeñar un papel importante en la progresión del tumor maligno. VEGF se considera que es el factor determinante de la angiogénesis y se ha identificado en 64,1% GBMs, existiendo una fuerte correlación entre la expresión de VEGF y la supervivencia, indicándo que el VEGF es un posible factor pronóstico en pacientes con gliomas. (54)

#### Alteraciones de la vía TP53/MDM2/p14ARF:

##### MUTACIONES EN EL GEN TP 53:

Las alteraciones de la vía TP53/MDM2/p14ARF juegan un papel muy importante en el desarrollo de los astrocitomas y en los glioblastomas secundarios. TP53 o gen p53 se encuentra en el brazo corto del cromosoma 17 (17p13) y codifica un factor de transcripción nuclear de 43,7 kDa. (55)

Mutaciones en el gen TP53 se han implicado en la progresión de gliomas de bajo grado a glioblastoma. Es un gen supresor tumoral que desempeña un papel importante en la apoptosis y el control del ciclo celular. Resulta esencial para inducir la respuesta de la célula ante el daño del ADN, deteniendo el ciclo celular en caso de mutación. (56)

El gen TP53 codifica una proteína p53 que interviene en diferentes procesos celulares entre los que se incluyen el ciclo celular, la respuesta de las células al daño en el DNA, la apoptosis, la diferenciación celular y la neoangiogénesis. La acción de p53 es como factor de transcripción, uniéndose a los promotores de los genes implicados. En condiciones normales p53 está unido y secuestrado por MDM2 impidiéndose la actividad transcripcional. Si aparece daño en el DNA y se libera p53 de MDM2, actuando como factor de transcripción promueve la transcripción de otros genes implicados en reparación de DNA y/o apoptosis. Si P53 no está dañado se repara el DNA si es posible, en caso contrario la célula entra en apoptosis. Si existen mutaciones de p53 los daños del DNA no pueden ser reparados provocándose un aumento de división celular y una disminución de la apoptosis. La MDM2 se une a p53 mutada o sin y su producción es inducida por p53 nativa, existiendo de esta forma un bucle de autorregulación de la cantidad de ambas. Otra proteína p14arf es capaz de actuar como represor de MDM2 cuando no está unido a p53, por lo que, si esta proteína se altera, se producirá más MDM2, que secuestrará más p53, siendo menor la reparación del DNA. (57)(58)

Las mutaciones de TP53 aparecen en menos del 10% de los glioblastomas primarios y por el contrario están presentes en más del 65% de los glioblastomas secundarios, soñiendo estarlo desde la primera biopsia, ya que hasta dos terceras partes de los gliomas de bajo grado y astrocitomas anaplásicos precursores también las presentan. La proteína codificada por este gen se observa acumulada con más frecuencia que las mutaciones, de forma que en los glioblastomas secundarios se objetiva en más del 90% de los casos y en los secundarios en menos del 30%. Además se ha observado en algunos estudios que la acumulación de la proteína codificada por este gen aumenta de la primera biopsia a los tumores recidivados. (59)

En los glioblastomas secundarios el 57% de las mutaciones se localizan en los codones 248 y 273 sin embargo en los glioblastomas primarios las mutaciones se distribuyen de una manera más homogénea por todos los exones y sólo un 17% ocurren en los codones 248 y 273. Además, la mutación más frecuente de TP53, la transiciones G:C A:T en las islas CpG, que se creen resultan de la desaminación de 5-meC, son más frecuentes también en los glioblastomas secundarios. Un 10% de los glioblastomas presentan amplificación de MDM2 y parece ser que este fenómeno ocurre en glioblastomas primarios que no presentan mutación en p53, siendo excepcional en los glioblastomas secundarios. (60)

La relevancia de p53 para el tratamiento y el pronóstico de los pacientes con glioma de alto grado se ha mantenido controvertido. Algunos estudios han demostrado que el estado de p53, ya sea mediante la expresión o el análisis de la mutación, se correlaciona con los resultados pronósticos (61) (62), mientras que otros han demostrado un impacto pronóstico en gliomas anaplásicos y GBM. (63) (64)



## Alteraciones de la vía EGFR/PTEN/Akt/mTOR

La vía EGFR/PTEN/Akt/mTOR es la vía clave en el desarrollo de los glioblastomas primarios. La activación de EGFR por factores de crecimiento extracelulares hace que se reclute PI3K en la membrana celular que a través de una fosforilación, activa moléculas efectoras como AKT y mTOR, lo que finalmente ocasiona proliferación celular y aumento de la supervivencia celular por inhibición de la apoptosis. La regulación de esta vía se debe en parte a PTEN que bloquea la activación de AKT.

## MUTACIÓN EGFR

La activación de EGFR, miembro de la familia de receptores tirosincinasas codificado en el cromosoma 7p, es el primer paso en la cascada de señalización, promueve la división y migración celular, y bloquea la apoptosis. Su amplificación/sobreexpresión o mutación es un marcador de muchos GBM, específicamente del tipo primario, que es el más frecuente. (65)

El EGFR se involucra en la proliferación celular y está amplificado en un 40% ó sobreexpresado en un 60% de los glioblastomas primarios mientras que esto solo ocurre en un 10% de los glioblastomas secundarios. Todos los glioblastomas que presentan amplificación de EGFR demuestran sobreexpresión de ésta, mientras que sólo el 70 al 90% de los pacientes con sobreexpresión demuestran amplificación. La amplificación de EGFR se suele acompañar de la delección del cromosoma 10, sin embargo es excepcional que un glioblastoma con amplificación de EGFR muestre mutaciones del gen supresor de tumores TP53 como si fueran eventos genéticamente excluyentes en la génesis del glioblastoma (66) (67). La sobreexpresión génica de EGFR puede deberse, entre otros factores a una amplificación en tándem que da lugar a diferentes variantes de la proteína. La más frecuente es la variante EGFRvIII que provoca la síntesis de un receptor truncado y activado independientemente del ligando por lo que la célula se divide de forma incontrolada (68).

Generalmente se considera marcador diagnóstico, determinándose mediante hibridación in situ fluorescente (FISH), resultando de gran ayuda como marcador diagnóstico, sobre todo en situaciones en las que el tejido recibido es escaso o poco representativo y los criterios histológicos insuficientes para establecer el diagnóstico de un tumor de grado IV. Asimismo, puede ser fundamental en el ocasionalmente difícil diagnóstico diferencial entre oligodendroglioma de alto grado de malignidad y GBM de células pequeñas. (69)(70)

Como marcador pronóstico los datos son variados. La amplificación de EGFR y EGFRvIII se ha asociado con alto grado de malignidad y puede proporcionar información pronóstica en algunos estudios, por ejemplo, EGFRvIII ha sido notificado como un indicador de mal pronóstico en GBM y astrocitoma anaplásico (71)(72), y también la mala respuesta a la radiación y a la quimioterapia (73). Por el contrario, otros estudios han informado de que estas anomalías carecen de cualquier asociación con la supervivencia en GBM (74)(75), o que la amplificación de EGFR puede conferir una mejor supervivencia en pacientes ancianos (76).

## MUTACIÓN PTEN:

El gen de PTEN se localiza en 10q23, actúa como un gen supresor tumoral, formando parte de una vía de señalización de muerte celular programada. Su defosforilación lleva a la inhibición de la vía AKT, poderosa vía prooncogénica en muchos cánceres, incluidos gliomas. La inactivación de PTEN por mutación o delección es un rasgo común en gliomas de alto grado; entre el 15-40% de los GBM primarios y más del 80% del global de los GBM tienen pérdida de heterocigosidad en 10q, incluyendo 10q23. En el caso de la variante GBM de células pequeñas, la pérdida de 10q es casi universal, lo que lo convierte en un marcador diagnóstico muy útil, sobre todo combinado con EGFR y el estudio del estado 1p/19q. La mutación de PTEN no se observa en astrocitomas de bajo grado y se considera que ocurre casi de forma exclusiva en los glioblastomas primarios siendo muy rara (4%) en los secundarios, de hecho las mutaciones de PTEN y TP53 parecen excluyentes en los glioblastomas. En los GBM pediátricos, la delección de PTEN es el único marcador conocido y, como variante independiente, se asocia a menor supervivencia, por lo que adquiere potencial de marcador pronóstico en este grupo de enfermos, mientras que en adultos no añade información acerca del pronóstico, estando en estudio su papel como biomarcador predictivo de respuesta a tratamientos específicos. (77)(78)(79)

## Alteraciones de la vía p16INK4a/RB1

Las alteraciones de la vía p16INK4a/RB1 son importantes tanto en el desarrollo de glioblastomas primarios como secundarios. La proteína codificada por el gen del retinoblastoma (RB1) controla la transición de la fase G1 a la de síntesis en el ciclo celular. Cuando rb1 no está fosforilada secuestra a E2F que es el factor de transcripción que activa los genes implicados en esta transición de G1 a S. La fosforilación de rb1 se produce por la CDK4 (ciclina dependiente de quinasa 4) y la proteína que inhibe esta CDK4 es la p16INK4a que es codificada por el gen CDKN2A. La función anormal de rb1 puede ser por tanto resultado de la expresión alterada de los genes de RB1, la p16INK4a o CDK4. Si se amplifica CDK4 o se pierde expresión de p16INK4a por pérdida en homocigosis, se provocará una fosforilación *continuada* de rb1 que no podrá secuestrar a E2F, por lo que la división celular estará continuamente activada. Las alteraciones en esta vía son frecuentes en los glioblastomas primarios y secundarios siendo su frecuencia 50% y 39% respectivamente. (80)

Las delecciones homocigotas de p16INK4a son más frecuentes en los glioblastomas primarios aunque no hay diferencia entre primario y secundario cuando las alteraciones en este gen se deben a metilación del promotor. Las conclusiones sobre el valor predictivo de la supresión homocigota de p16INK4a han sido inconsistentes.(80)(81)

Las delecciones o mutaciones del gen Rb se producen en 40% de los casos de GBM secundarias (81). La metilación del promotor del gen RB1 es significativamente más frecuente en los glioblastomas secundarios (43%) que en los primarios (14%). La metilación

de RB1 no se ha detectado en gliomas de bajo grado ni astrocitomas anaplásicos por lo que se considera un evento tardío en la progresión de los astrocitomas. (82)

La pérdida de P16 también ha sido reportada en el 20% -57% de los casos de GBM. (80)

Aproximadamente el 95% de los gliomas que tienen delección de CDKN2A homocigota en el 20% de las células tumorales, corresponde histológicamente a astrocitomas de grado III o IV. Aproximadamente dos tercios de los gliomas de alto grado tienen delecciones hetero u homocigotas detectables por FISH. En oligodendrogliomas, este hallazgo se asocia con una disminución de los períodos libres, interrecurrencias y progresión a la anaplasia. En gliomas difusos, como grupo, se asocia con supervivencia más corta, aunque no parece tener valor como factor pronóstico independiente. (83)(84)

La interrupción de la vía p16INK4a/RB1, pérdida de CDKN2A, en algunos trabajos se ha asociado con menor supervivencia como por ejemplo en astrocitomas anaplásicos (85) (86). Por el contrario, p16 parece estar asociada con una mejor supervivencia en pacientes tratados con quimioterapia y radiación en otros estudios (87).

## BIBLIOGRAFIA

- (1) Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, eds. *WHO classification of tumours of the central nervous system*. Lyon: IARC Press; 2007.
- (2) Masui K, Cloughesy TF, Mischel PS. *Molecular pathology in adult high-grade gliomas: from molecular diagnostics to target therapies*. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2012;38(3):271–291.
- (3) Jeuken JW, von Deimling A, Wesseling P. *Molecular pathogenesis of oligodendroglial tumors*. *J Neurooncol* 2004; 70: 161–8
- (4) Cairncross G, Jenkins R. *Gliomas with 1p/19q codeletion: a.k.a. oligodendroglioma*. *Cancer J* 2008; 14: 352–7
- (5) Aldape K, Burger PC, Perry A. *Clinicopathologic aspects of 1p/19q loss and the diagnosis of oligodendroglioma*. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 242–51
- (6) Cairncross JG, Ueki K, Zlatescu MC, Lisle DK, Finkelstein DM, Hammond RR, Silver JS, Stark PC, Macdonald DR, Ino Y, Ramsay DA, Louis DN. *Specific genetic predictors of chemotherapeutic response and survival in patients with anaplastic oligodendrogliomas*. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90: 1473–9
- (7) Cairncross G, Berkey B, Shaw E, et al. *Phase III trial of chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone for pure and mixed anaplastic oligodendroglioma: Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402*. *J Clin Oncol*. 2006;24:2707–2714.
- (8) Van den Bent MJ, Carpentier AF, Brandes AA, 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;24:2715–2722.

- (9) Wick W, Hartmann C, Engel C, et al. NOA-04 randomized phase III trial of sequential radiochemotherapy of anaplastic glioma with PCV or temozolomide. *J Clin Oncol* 2009;27:5874–5880.
- (10) Cairncross G, Berkey B, Shaw E, Jenkins R, Scheithauer B, Brachman D, Buckner J, Fink K, Souhami L, Laperriere N, Mehta M, Curran W. Phase III trial of chemotherapy plus radiotherapy compared with radiotherapy alone for pure and mixed anaplastic oligodendroglioma: Intergroup Radiation Therapy Oncology Group Trial 9402. *J Clin Oncol* 2006; 24: 2707–14
- (11) Van den Bent MJ, Carpentier AF, Brandes AA, Sanson M, Taphoorn MJ, Bernsen HJ, Frenay M, Tijssen CC, Grisold W, Spos L, Haaxma-Reiche H, Kros JM, van Kouwenhoven MC, Vecht CJ, Allgeier A, Lacombe D, Gorlia T. 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: 2715–22
- (12) Kouwenhoven MC, Kros JM, French PJ, Biemond-ter Stege EM, Graveland WJ, Taphoorn MJ, Brandes AA, van den Bent MJ. 1p/19q loss within oligodendroglioma is predictive for response to first line temozolomide but not to salvage treatment. *Eur J Cancer* 2006; 42: 2499–503
- (13) Snuderl M, Eichler AF, Ligon KL, Vu QU, Silver M, Betensky RA, Ligon AH, Wen PY, Louis DN, Iafrate AJ. Polysomy for chromosomes 1 and 19 predicts earlier recurrence in anaplastic oligodendrogliomas with concurrent 1p/19q loss. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 6430–7
- (14) Kaneshiro D, Kobayashi T, Chao ST, Suh J, Prayson RA. Chromosome 1p and 19q deletions in glioblastoma multiforme. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2009; 17: 512–16
- (15) Burton EC, Lamborn KR, Feuerstein BG, Prados M, Scott J, Forsyth P, Passe S, Jenkins RB, Aldape KD. Genetic aberrations defined by comparative genomic hybridization distinguish long-term from typical survivors of glioblastoma. *Cancer Res* 2002; 62: 6205–10
- (16) Reifenberger G, Louis DN. Oligodendroglioma: toward molecular definitions in diagnostic neuro-oncology. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003; 62: 111–26
- (17) Hatanpaa KJ, Burger PC, Eshleman JR, Murphy KM, Berg KD. Molecular diagnosis of oligodendroglioma in paraffin sections. *Lab Invest* 2003; 83: 419–28
- (18) Van Meir EG, Hadjipanayis CG, Norden AD, Shu HK, Wen PY, Olson JJ. Exciting new advances in neuro-oncology. The avenue to a cure for malignant glioma. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 166–93.
- (19) Horbinski C, Miller CR, Perry A. Gone FISHing: clinical lessons learned in brain tumor molecular diagnostics over the last decade. *Brain Pathol* 2011; 21: 57–7. Broholm H, Born PW, Guterbaum D, Dyrbye H, Laursen H. Detecting chromosomal alterations at 1p and 19q by FISH and DNA fragment analysis a comparative study in human gliomas. *Clin Neuropathol* 2008; 27: 378–87.
- (20) Scheie D, Cvanarova M, Mørk S, Skullerud K, Andresen PA, Benestad I, et al. Can morphology predict 1p/19q loss in oligodendroglial tumours? *Histopathology* 2008; 53: 578–87.



- (21) Hartmann C, Meyer J, Balss J, Capper D, Mueller W, Christians A, Felsberg J, Wolter M, Mawrin C, Wick W, Weller M, Herold-Mende C, Unterberg A, Jeuken JW, Wesseling P, Reifenberger G, von Deimling A. 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: 469–74
- (22) Reitman ZJ, Yan H. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in cancer: alterations at a crossroads of cellular metabolism. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102: 932–41
- (23) Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, Kos I, Batinic-Haberle I, Jones S, Riggins GJ, Friedman H, Friedman A, Reardon D, Herndon J, Kinzler KW, Velculescu VE, Vogelstein B, Bigner DD. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* 2009; 360: 765–73
- (24) Zhao S, Lin Y, Xu W, Jiang W, Zha Z, Wang P, Yu W, Li Z, Gong L, Peng Y, Ding J, Lei Q, Guan KL, Xiong Y. Glioma-derived mutations in IDH1 dominantly inhibit IDH1 catalytic activity and induce HIF-1alpha. *Science* 2009; 324: 261–5
- (25) Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, Mankoo P, Carter H, Siu IM, Gallia GL, Olivi A, McLendon R, Rasheed BA, Keir S, Nikolskaya T, Nikolsky Y, Busam DA, Tekleab H, Diaz LA Jr, Hartigan J, Smith DR, Strausberg RL, Marie SK, Shinjo SM, Yan H, Riggins GJ, Bigner DD, Karchin R, Papadopoulos N, Parmigiani G, Vogelstein B, Velculescu VE, Kinzler KW. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008; 321: 1807–12
- (26) Jansen M, Yip S, Louis DN. Molecular pathology in adult gliomas: diagnostic, prognostic, and predictive markers. *Lancet Neurol* 2010; 9: 717–26.
- (27) Ichimura K, Pearson DM, Kocalkowski S, Backlund LM, Chan R, Jones DT, Collins VP. IDH1 mutations are present in the majority of common adult gliomas but rare in primary glioblastomas. *Neuro Oncol* 2009; 11: 341–7
- (28) Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, Kos I, Batinic-Haberle I, Jones S, Riggins GJ, Friedman H, Friedman A, Reardon D, Herndon J, Kinzler KW, Velculescu VE, Vogelstein B, Bigner DD. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* 2009; 360: 765–73
- (29) Horbinski C, Kofler J, Kelly LM, Murdoch GH, Nikiforova MN. Diagnostic use of IDH1/2 mutation analysis in routine clinical testing of formalin-fixed, paraffinembedded glioma tissues. *J Neuropathol Exp Neurol* 2009; 68: 1319–25
- (30) Louis, D.N., 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: 803
- (31) *WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System, Revised 4th Edition*, Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK (Eds), IARC, Lyon 2016.
- (32) Esteller M, Garcia-Foncillas J, Andion E, Goodman SN, Hidalgo OF, Vanaclocha V, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents. *N Engl J Med* 2000; 343: 1350–4
- (33) Von Deimling A, Korshunov A, Hartmann C. The next generation of glioma biomarkers: MGMT methylation, BRAF fusions and IDH1 mutations. *Brain Pathol* 2011; 21: 74–87
- (34) Jansen M, Yip S, Louis DN. Molecular pathology in adult gliomas: diagnostic, prognostic, and predictive markers. *Lancet Neurol* 2010; 9: 717–26.

- (35) Weller M, Stupp R, Reifenberger G, Brandes AA, van den Bent MJ, Wick W, Hegi ME. MGMT promoter methylation in malignant gliomas: ready for personalized medicine? *Nat Rev Neurol* 2010; 6: 39–51
- (36) Karayan-Tapon L, Quillien V, Guilhot J, Wager M, Fromont G, Saikali S, Etcheverry A, Hamlat A, Loussouarn D, Campion L, Campone M, Vallette FM, Gratas-Rabbia-Re C. Prognostic value of O6-methylguanine- DNA methyltransferase status in glioblastoma patients, assessed by five different methods. *J Neurooncol* 2010; 97: 311–22
- (37) Herman JG, Graff JR, Myohanen S, Nelkin BD, Baylin SB. Methylation-specific PCR: a novel PCR assay for methylation status of CpG islands. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 9821–6
- (38) Mikeska T, Bock C, El-Maarri O, Hubner A, Ehrentraut D, Schramm J, Felsberg J, Kahl P, Buttner R, Pietsch T, Waha A. Optimization of quantitative MGMT promoter methylation analysis using pyrosequencing and combined bisulfite restriction analysis. *J Mol Diagn* 2007; 9: 368–81
- (39) Jeuken JW, Cornelissen SJ, Vriezen M, Dekkers MM, Errami A, Sijben A, Boots-Sprenger SH, Wesseling P. MS-MLPA: an attractive alternative laboratory assay for robust, reliable, and semiquantitative detection of MGMT promoter hypermethylation in gliomas. *Lab Invest* 2007; 87: 1055–65
- (40) Preusser M, Charles Janzer R, Felsberg J, Reifenberger G, Hamou MF, Diserens AC, Stupp R, Gorlia T, Marosi C, Heinzl H, Hainfellner JA, Hegi M. Anti-O6- methylguanine-methyltransferase (MGMT) immunohistochemistry in glioblastoma multiforme: observer variability and lack of association with patient survival impede its use as clinical biomarker. *Brain Pathol* 2008; 18: 520–32
- (41) Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, Curschmann J, Janzer RC, Ludwin SK, Gorlia T, Allgeier A, Lacombe D, Cairncross JG, Eisenhauer E, Mirimanoff RO, European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups, National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352: 987–96
- (42) Gorlia T, van den Bent MJ, Hegi ME, Mirimanoff RO, Weller M, Cairncross JG, Eisenhauer E, Belanger K, Brandes AA, Allgeier A, Lacombe D, Stupp R. Nomograms for predicting survival of patients with newly diagnosed glioblastoma: prognostic factor analysis of EORTC and NCIC trial 26981-22981/CE.3. *Lancet Oncol* 2008; 9: 29–33
- (43) Rivera AL, Pelloski CE, Gilbert MR, Colman H, De La Cruz C, Sulman EP, Bekele BN, Aldape KD. MGMT promoter methylation is predictive of response to radiotherapy and prognostic in the absence of adjuvant alkylating chemotherapy for glioblastoma. *Neuro Oncol* 2010; 12: 116–21
- (44) Minniti G, Salvati M, Arcella A, Buttarelli F, D'Elia A, Lanzetta G, Esposito V, Scarpino S, Maurizi Enrici R, Giangaspero F. Correlation between O6-methylguanine-DNA methyltransferase and survival in elderly patients with glioblastoma treated with radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide. *J Neurooncol* 2011; 102: 311–16



- (45) Hegi ME, Diserens AC, Gorlia T, Hamou MF, de Tribolet N, Weller M, Kros JM, Hainfellner JA, Mason W, Mariani L, Bromberg JE, Hau P, Mirimanoff RO, Cairncross JG, Janzer RC, Stupp R. MGMT gene silencing and benefit from temozolomide in glioblastoma. *N Engl J Med* 2005; 352: 997–1003
- (46) Riemenschneider MJ, Hegi ME, Reifenberger G. MGMT promoter methylation in malignant gliomas. *Target Oncol* 2010; 5: 161–5
- (47) Van Meir EG, Hadjipanayis CG, Norden AD, Shu HK, Wen PY, Olson JJ. Exciting New advances in neuro-oncology. The avenue to a cure for malignant glioma. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 166–93
- (48) Horbinski C, Miller CR, Perry A. Gone FISHing: clinic lessons learned in brain tumor molecular diagnostics over the last decade. *Brain Pathol* 2011; 21: 57–7.
- (49) Fults, D.; Pedone, C.A.; Thompson, G.E.; Uchiyama, C.M.; Gumpfer, K.L.; Iliev, D.; Vinson, V.L.; Tavtigian, S.V.; Perry, W.L., 3rd. Microsatellite deletion mapping on chromosome 10q and mutation analysis of MMAC1, FAS, and MXI1 in human glioblastoma multiforme. *Int. J. Oncol.* 1998, 12, 905–910.
- (50) Wooten, E.C.; Fults, D.; Duggirala, R.; Williams, K.; Kyritsis, A.P.; Bondy, M.L.; Levin, V.A.; O'Connell, P. A study of loss of heterozygosity at 70 loci in anaplastic astrocytoma and glioblastoma multiforme with implications for tumor evolution. *Neurooncology* 1999, 1, 169–176.
- (51) Ohgaki, H.; Dessen, P.; Jourde, B.; Horstmann, S.; Nishikawa, T.; di Patre, P.L.; Burkhard, C.; Schuler, D.; Probst-Hensch, N.M.; Maiorka, P.C.; et al. Genetic pathways to glioblastoma: A population-based study. *Cancer Res.* 2004, 64, 6892–6899.
- (52) Schmidt, M.C.; Antweiler, S.; Urban, N.; Mueller, W.; Kuklik, A.; Meyer-Puttlitz, B.; Wiestler, O.D.; Louis, D.N.; Fimmers, R.; von Deimling, A. Impact of genotype and morphology on the prognosis of glioblastoma. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2002, 61, 321–328.
- (53) Kakkar, A.; Suri, V.; Jha, P.; Srivastava, A.; Sharma, V.; Pathak, P.; Sharma, M.C.; Sharma, M.S.; Kale, S.S.; Chosdol, K.; et al. Loss of heterozygosity on chromosome 10q in glioblastomas, and its association with other genetic alterations and survival in Indian patients. *Neurol. India* 2011, 59, 254–261.
- (54) Bell, E.H.; Hadziahmetovic, M.; Chakravarti, A. Evolvement of molecular biomarkers in targeted therapy of malignant gliomas. In *Brain Tumors—Current and Emerging Therapeutic Strategies*, 1st ed.; Abujamra, A.L., Ed.; InTech Europe: Rijeka, Croatia, 2011; pp. 117–142
- (55) Louis DN. The p53 gene and protein in human brain tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 1994; 53: 11–21
- (56) Hulleman E, Helin K. Molecular mechanisms in gliomagenesis. *Adv Cancer Res* 2005; 94: 1–27
- (57) Nozaki M, Tada M, Kobayashi H, Zhang CL, Sawamura Y, Abe H, Ishii N, Van Meir EG. Roles of the functional loss of p53 and other genes in astrocytoma tumorigenesis and progression. *Neuro Oncol* 1999; 1: 124–37
- (58) Vousden KH, Prives C. Blinded by the light: the growing complexity of p53. *Cell* 2009; 137: 413–31
- (59) Jansen M, Yip S, Louis DN. Molecular pathology in adult gliomas: diagnostic, prognostic, and predictive markers. *Lancet Neurol* 2010; 9: 717–26.

- (60) Ohgaki H, Kleihues P. Genetic pathways to primary and secondary glioblastoma. *Am J Pathol* 2007; 170: 1445–53
- (61) Schiebe M, Ohneseit P, Hoffmann W, Meyermann R, Rodemann HP, Bamberg M. Analysis of *mdm2* and *p53* gene alterations in glioblastomas and its correlation with clinical factors. *J Neurooncol* 2000; 49: 197–203
- (62) Birner P, Piribauer M, Fischer I, Gatterbauer B, Marosi C, Ungersbock K, Rossler K, Budka H, Hainfellner JA. Prognostic relevance of *p53* protein expression
- (63) Kraus JA, Glesmann N, Beck M, Krex D, Klockgether T, Schackert G, Schlegel U. Molecular analysis of the *PTEN*, *TP53* and *CDKN2A* tumor suppressor genes in long-term survivors of glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 2000; 48: 89–94
- (64) Rich JN, Hans C, Jones B, Iversen ES, McLendon RE, Rasheed BK, Dobra A, Dressman HK, Bigner DD, Nevins JR, West M. Gene expression profiling and genetic markers in glioblastoma survival. *Cancer Res* 2005; 65: 4051–8
- (65) Sawyers CL. Opportunities and challenges in the development of kinase inhibitor therapy for cancer. *Genes Dev* 2003; 17: 2998–3010
- (66) Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. *Nature* 2008; 455: 1061–8
- (67) Omuro AM, Faivre S, Raymond E. Lessons learned in the development of targeted therapy for malignant gliomas. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 1909–19
- (68) Aldape KD, Ballman K, Furth A, Buckner JC, Giannini C, Burger PC, Scheithauer BW, Jenkins RB, James CD. Immunohistochemical detection of EGFRvIII in high malignancy grade astrocytomas and evaluation of prognostic significance. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004; 63: 700–7
- (69) Louis DN. Molecular pathology of malignant gliomas. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2006; 1: 97–117.
- (70) Yip S, Iafrate AJ, Louis DN. Molecular diagnostic testing in malignant gliomas: a practical update on predictive markers. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008; 67: 1–15.
- (71) Heimberger AB, Hlatky R, Suki D, Yang D, Weinberg J, Gilbert M, Sawaya R, Aldape K. Prognostic effect of epidermal growth factor receptor and EGFRvIII in glioblastoma multiforme patients. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 1462–6
- (72) Liu L, Backlund LM, Nilsson BR, Grander D, Ichimura K, Goike HM, Collins VP. Clinical significance of EGFR amplification and the aberrant EGFRvIII transcript in conventionally treated astrocytic gliomas. *J Mol Med* 2005; 83: 917–26
- (73) Wepler SA, Li Y, Dubois L, Lieuwes N, Jutten B, Lambin P, Wouters BG, Lammering G. Expression of EGFR variant VIII promotes both radiation resistance and hypoxia tolerance. *Radiother Oncol* 2007; 83: 333–9
- (74) Huncharek M, Kupelnick B. Epidermal growth factor receptor gene amplification as a prognostic marker in glioblastoma multiforme: results of a meta-analysis. *Oncol Res* 2000; 12: 107–12
- (75) Heimberger AB, Suki D, Yang D, Shi W, Aldape K. The natural history of EGFR and EGFRvIII in glioblastoma patients. *J Transl Med* 2005; 3: 38
- (76) Smith JS, Tachibana I, Passe SM, Huntley BK, Borell TJ, Iturria N, O'Fallon JR, Schaefer PL, Scheithauer BW, James CD, Buckner JC, Jenkins RB. *PTEN* mutation, EGFR amplification, and outcome in patients with anaplastic astrocytoma and glioblastoma multiforme. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 1246–56

- (77) Simpson, L.; Parsons, R. *PTEN: Life as a tumor suppressor. Exp. Cell Res.* 2001, 264, 29-41.
- (78) Van Meir EG, Hadjipanayis CG, Norden AD, Shu HK, Wen PY, Olson JJ. *Exciting New advances in neuro-oncology. The avenue to a cure for malignant glioma. CA Cancer J Clin* 2010; 60: 166-93.
- (79) Mellinghoff IK, Wang MY, Vivanco I, Haas-Kogan DA, Zhu S, Dia EQ, Lu KV, Yoshimoto K, Huang JH, Chute DJ, Riggs BL, Horvath S, Liau LM, Cavenee WK, Rao PN, Beroukhi R, Peck TC, Lee JC, Sellers WR, Stokoe D, Prados M, Cloughesy TF, Sawyers CL, Mischel PS. *Molecular determinants of the response of glioblastomas to EGFR kinase inhibitors. N Engl J Med* 2005; 353: 2012-24
- (80) Kim, B.; Myung, J.K.; Seo, J.H.; Park, C.K.; Paek, S.H.; Kim, D.G.; Jung, H.W.; Park, S.H. *The clinicopathologic values of the molecules associated with the main pathogenesis of the glioblastoma. J. Neurol. Sci.* 2010, 294, 112-118.
- (81) Gladson, C.L.; Prayson, R.A.; Liu, W.M. *The pathobiology of glioma tumors. Annu. Rev. Pathol.* 2010, 5, 33-50.
- (82) Ohgaki, H.; Dessen, P.; Jourde, B.; Horstmann, S.; Nishikawa, T.; di Patre, P.L.; Burkhard, C.; Schuler, D.; Probst-Hensch, N.M.; Maiorka, P.C.; et al. *Genetic pathways to glioblastoma: A population-based study. Cancer Res.* 2004, 64, 6892-6899
- (83) Yip S, lafrate AJ, Louis DN. *Molecular diagnostic testing in malignant gliomas: a practical update on predictive markers. J Neuropathol Exp Neurol* 2008; 67: 1-15.
- (84) Van Meir EG, Hadjipanayis CG, Norden AD, Shu HK, Wen PY, Olson JJ. *Exciting New advances in neuro-oncology. The avenue to a cure for malignant glioma. CA Cancer J Clin* 2010; 60: 166-93.
- (85) Puduvalli VK, Kyritsis AP, Hess KR, Bondy ML, Fuller GN, Kouraklis GP, Levin VA, Bruner JM. *Patterns of expression of Rb and p16 in astrocytic gliomas, and correlation with survival. Int J Oncol* 2000; 17: 963-9
- (86) Backlund LM, Nilsson BR, Liu L, Ichimura K, Collins VP. *Mutations in Rb1 pathway-related genes are associated with poor prognosis in anaplastic astrocytomas. Br J Cancer* 2005; 93: 124-30
- (87) Ang C, Guiot MC, Ramanakumar AV, Roberge D, Kavan P. *Clinical significance of molecular biomarkers in glioblastoma. Can J Neurol Sci* 2010; 37: 625-30