



**Universidad**  
Zaragoza

## **TRABAJO FIN DE GRADO**

### **Influencia diagnóstica y pronóstica de marcadores genéticos en gliomas cerebrales**

\*\*\*

“Diagnostic and prognostic influence of  
genetic markers in brain gliomas”

**Autor/a:**

Laura López García

**Director:**

Dr. Jesús Aguas Valiente

Universidad de Zaragoza. Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía

Curso académico 2024 - 2025

## ÍNDICE

1. Resumen/Abstract.....	3
2. Objetivos.....	5
3. Introducción.....	6
3.1 Gliomas cerebrales: .....	6
3.1.1 Anatomía patológica:.....	8
3.1.2 Diagnóstico:.....	10
3.1.3 Tratamiento:.....	11
3.2 Nueva clasificación OMS 2021:.....	13
3.3 Marcadores genéticos: .....	16
3.3.1 Mutación <i>IDH 1/2</i> :.....	16
3.3.2 Deleción <i>CDKN2A/B</i> :.....	17
3.3.3 Amplificación de <i>EGFR</i> , las mutaciones <i>TERTp</i> , la ganancia del cromosoma 7 y la pérdida del cromosoma 10: .....	18
3.3.4 Codeleción <i>1p/19q</i> :.....	19
3.3.5 Mutación <i>ATRX</i> : .....	20
3.3.6 Mutaciones histona H3.3:.....	20
3.3.7 Metilación del promotor <i>MGMT</i> : .....	20
4. Material y métodos .....	23
4.1 Diseño del estudio y datos de la muestra:.....	23
4.2 Análisis inmunohistoquímico de mutación <i>IDH1</i> : .....	25
4.3 Análisis estadístico: .....	27
4.4 Aspectos éticos: .....	27
5. Resultados.....	28
6. Discusión .....	34
7. Conclusiones.....	38
8. Bibliografía.....	39
9. Anexos.....	43

## 1. RESUMEN

La clasificación de los gliomas difusos cerebrales ha experimentado una gran transformación a causa de la incorporación de parámetros moleculares en la nueva clasificación de tumores del sistema nervioso central de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 2021. El objetivo principal de este trabajo ha sido analizar la influencia diagnóstica y pronóstica de los marcadores genéticos en los gliomas cerebrales, con especial interés al valor clínico de la mutación *IDH1*.

Para ello se ha llevado a cabo un estudio observacional retrospectivo en una muestra de 152 pacientes diagnosticados de manera tradicional como glioblastoma multiforme. Posteriormente, esos pacientes han sido reclasificados según los nuevos criterios moleculares introducidos en 2021, y se han analizado sus curvas de supervivencia mediante el método de Kaplan-Meier, estratificadas por el estado de la mutación *IDH1*, la edad, el sexo y el tipo de resección quirúrgica recibida.

Se observaron diferencias significativas en la supervivencia según la edad (mejor pronóstico en pacientes  $\leq 55$  años) y el tipo de resección (mayor supervivencia tras resección completa). No se encontraron diferencias significativas según el sexo, y los pacientes *IDH1*-mutados mostraron una mayor mediana de supervivencia, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. También se evidenció una mayor prevalencia de la mutación *IDH1* en pacientes jóvenes, hallazgo que es coherente con la literatura internacional previa.

Estos resultados refuerzan la relevancia clínica de los marcadores moleculares en el diagnóstico y pronóstico de los gliomas. Entre las limitaciones del estudio destacan el número reducido de casos *IDH1*-mutados y la ausencia de información molecular complementaria. Por ello, se recomienda la realización de estudios multicéntricos con mayor tamaño muestral y caracterización genética más amplia para confirmar los hallazgos de este estudio.

**Palabras clave:** glioblastoma, mutación *IDH1*, clasificación OMS 2021, pronóstico, biomarcadores, Kaplan-Meier.

## ABSTRACT

The classification of diffuse cerebral gliomas has undergone a major transformation due to the incorporation of molecular parameters in the 2021 World Health Organization (WHO) classification of central nervous system tumors. The main objective of this study was to analyze the diagnostic and prognostic influence of genetic markers in cerebral gliomas, with a special focus on the clinical value of the *IDH1* mutation.

To this end, a retrospective observational study was conducted in a sample of 152 patients traditionally diagnosed with glioblastoma multiforme. These patients were subsequently reclassified according to the new molecular criteria introduced in 2021, and their survival curves were analyzed using the Kaplan–Meier method, stratified by *IDH1* mutation status, age, sex, and type of surgical resection received.

Significant differences in survival were observed based on age (better prognosis in patients  $\leq 55$  years) and type of resection (longer survival after complete resection). No significant differences were found according to sex, and IDH1-mutated patients showed a higher median survival, although this difference was not statistically significant. A higher prevalence of *IDH1* mutation in younger patients was also found, a result consistent with previous international literature.

These findings reinforce the clinical relevance of molecular markers in the diagnosis and prognosis of gliomas. The main limitations of the study include the small number of IDH1-mutated cases and the lack of complementary molecular information. Therefore, multicenter studies with larger sample sizes and broader genetic characterization are recommended to validate these findings.

**Keywords:** glioblastoma, *IDH1* mutation, WHO 2021 classification, prognosis, biomarkers, Kaplan–Meier.

## 2. OBJETIVOS:

### Objetivo general:

Determinar cuáles son los marcadores genéticos que influyen en el pronóstico y diagnóstico de los gliomas cerebrales.

### Objetivos específicos:

1. Estudiar las modificaciones en la nueva clasificación de tumores del sistema nervioso central (SNC) de la OMS de 2021 y reclasificar la muestra en base a los nuevos criterios.
2. Analizar la influencia de la mutación *IDH1* en la supervivencia de pacientes diagnosticados tradicionalmente como glioblastoma multiforme.
3. Cuantificar la prevalencia de la mutación *IDH1* en los diferentes rangos de edad de nuestra muestra y con respecto al sexo.
4. Estudiar si hay diferencias significativas en la supervivencia entre los diferentes grupos de edades ( $\leq 55$  años, entre 55 y 70 años, y  $\geq 70$  años); en dependencia del tipo de resección realizada (completa, subtotal o biopsia), y del sexo (hombre o mujer).

**Hipótesis de investigación (H1):** La presencia de mutación *IDH1* en gliomas cerebrales se relaciona con una mayor supervivencia global.

### 3. INTRODUCCIÓN

#### 3.1 Gliomas cerebrales:

Los tumores del sistema nervioso central constituyen aproximadamente el 2% de todas las neoplasias, ocupando el segundo lugar en frecuencia después de las leucemias. Dentro de este tipo de neoplasias, los tumores del SNC de origen glial son los más comunes, destacando el glioblastoma como el subtipo más frecuente y agresivo de tumor cerebral maligno primario en adultos [1], el cual representa un inmenso desafío en el manejo clínico debido a su desfavorable pronóstico y a su limitada respuesta terapéutica [2]. Cabe destacar que la nueva clasificación de gliomas cerebrales difusos de la OMS de 2021 ha representado un avance crucial, debido a que ha permitido una categorización más específica de los gliomas cerebrales gracias a la creciente relevancia de los marcadores moleculares.

En muchos estudios se ha tratado de aclarar el origen tumoral de los gliomas cerebrales, siendo la hipótesis más aceptada la que expone un posible “doble origen” de estas neoplasias a partir de una población mixta de células gliales ventriculares y radiales externas en la zona subventricular. Las células tumorales aprovechan un sistema inmunológico debilitado y proliferan a causa de la sobreproducción de factores de crecimiento en la región perivascular [3], teniendo especial importancia los macrófagos infiltrantes ya que promueven la angiogénesis tumoral, el crecimiento y la resistencia a los medicamentos a través de liberación de citoquinas y quimiocinas [1].

Tradicionalmente a los glioblastomas se les ha clasificado como primarios o secundarios en dependencia de su progresión clínica, velocidad de crecimiento y aspectos epidemiológicos. Los primarios o de novo son más frecuentes, más agresivos y con una velocidad de crecimiento y replicación muy alta. También tienen predisposición al sexo masculino y suelen aparecer en la quinta/sexta década de la vida. En cambio, los secundarios se caracterizan por desarrollarse a partir de otro tumor de menor grado, y aunque también tienen un carácter agresivo, su evolución y desarrollo es más lento, con predisposición a aparecer en edades más tempranas. Histopatológicamente son indistinguibles, pero molecularmente estas dos variantes difieren, ya que se ha observado que los glioblastomas primarios se caracterizan por presentar más típicamente

sobreexposición del gen *EGFR*, pérdida de heterocigosidad en 10q, amplificación de *MDM2*, mutaciones de *PTEN* [4] y ausencia de mutaciones *IDH1/2*; en cambio los secundarios tienen alta prevalencia de mutaciones en los genes *IDH1/2*, mutaciones en *TP53* y sobreexpresión de *PDGFRA*. En la actualidad esa distinción está en desuso debido a que con la nueva clasificación de 2021 son dos entidades totalmente diferentes [5].

Centrándonos en la epidemiología del glioblastoma debido a su alta frecuencia y malignidad, se observa que el glioblastoma representa el 14,5 % de todos los tumores primarios del SNC y el 48,6% de todos los tumores primarios malignos del SNC.

La incidencia de esta neoplasia varía en dependencia de factores como la edad, el sexo, diferencias geográficas y el origen étnico [6]. Oscila entre 0,59 y 5 casos por cada 100.000 personas, siendo 1,59 veces más común en los hombres y 1,99 veces más común en los caucásicos en comparación con pacientes afroamericanos, y aunque solo el 5% de los gliomas son familiares [6], estudios de casos y controles han señalado que los pacientes con gliomas adultos tienen 2,3 veces más probabilidades de tener antecedentes familiares de tumores cerebrales primarios. Es necesario destacar que en muchos países la incidencia está aumentando debido tanto a las mejoras diagnósticas como al envejecimiento de la población, ya que la incidencia aumenta exponencialmente más allá de los 40 años, con una edad media de diagnóstico de 65 años [3,7,8]. La presencia de mutaciones *IDH* también ha demostrado tener relación con la edad de los pacientes, debido a que la ausencia de mutación *IDH* predomina en pacientes mayores de 55 años, y las variantes *IDH*-mutante aparecen preferentemente en pacientes más jóvenes [9].

A pesar de que cada vez se conozca de forma más clara la fisiopatología y la biología de este tipo de tumores, no se ha conseguido revertir el mal pronóstico que padecen estos pacientes, ya que la mediana de supervivencia continúa siendo de 15 meses, con una tasa de supervivencia relativa a 5 años de solo el 6,8% [3]. Como factores que afectan a la supervivencia se puede destacar la edad y el sexo [6], aunque la causa principal de tan mal pronóstico puede ser que la mayoría de los pacientes recurren tras llevar a cabo el tratamiento convencional de forma correcta [3,10]. La recurrencia inicial más frecuente es la local, ocurriendo dentro de 2-3 cm de la cavidad de resección; aunque posteriormente se puede extender al líquido braquiocefálico. El pronóstico de estos pacientes cuando se produce la recurrencia, sobre todo cuando no es local, es bastante desfavorable ya que,

según estudios recientes desde la propagación leptomeníngea la mediana de supervivencia general es de 3,5 meses [10].

Los factores de riesgo ambientales de los gliomas son limitados, siendo la radiación ionizante en dosis medias/altas, especialmente en niños, el único con evidencia científica sólida. Curiosamente, un historial de antecedentes de alergias, afecciones atópicas, eccema y asma parece reducir el riesgo de glioma [6,7]. También se ha observado una asociación entre el síndrome de Lynch, caracterizado por mutaciones en genes de reparación del ADN, con un subtipo inusual de glioblastoma llamado "de novo replication repair deficient glioblastoma, IDH-wildtype" [10,11]. Con respecto a los astrocitomas IDH-mutantes, existe asociación con el síndrome Li-Fraumeni, el cual está caracterizado por mutaciones *TP53* [12].

### 3.1.1 Anatomía patológica:

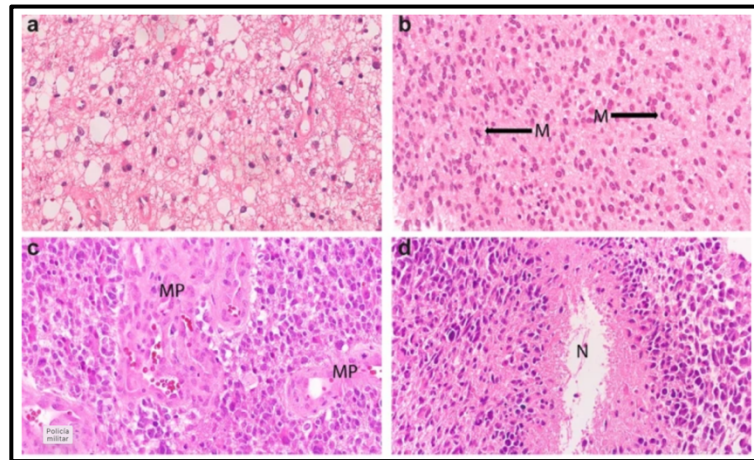
Según a la nueva clasificación de la OMS de 2021, los gliomas cerebrales difusos se dividen en astrocitoma IDH-mutante, glioblastoma IDH-wildtype y oligodendroglioma IDH-mutante y 1p/19-codeleted, teniendo cada uno de ellos características histológicas ligeramente diferentes pero insuficientes para realizar el diagnóstico definitivo, ya que se requiere conocer el estado de ciertos marcadores moleculares.

#### – Astrocitoma IDH-mutante:

- Grado 2: presenta buena diferenciación, densidad celular de baja a moderada, irregularidades nucleares leves y con una actividad mitótica muy baja o con ausencia de ella [13].
- Grado 3: presentan un aumento de densidad celular y de la atipia nuclear, multinucleación y mitosis anormal, mientras que la proliferación microvascular, la necrosis y las deleciones homocigóticas de *CDKN2A* y/o *CDKN2B* están por definición ausentes [13].
- Grado 4: representan el mayor espectro de malignidad de los astrocitomas y en el estudio anatomopatológico se observa proliferación microvascular, necrosis o deleción homocigótica de *CDKN2A* y/o *CDKN2B* [13].



Todas estas diferencias en las características histopatológicas de los diferentes grados se pueden observar en la *Figura 1*.



**Figura 1. Imágenes histopatológicas de astrocitomas IDH-mutantes de diferentes grados.** Se muestran cortes histológicos teñidos con hematoxilina-eosina (HE). a) Astrocitoma IDH-mutante grado 2; b) Astrocitoma IDH-mutante grado 3, en el que se evidencian figuras mitóticas (M); c) Astrocitoma IDH-mutante grado 4, con proliferación microvascular (MP); d) Astrocitoma IDH-mutante grado 4, con necrosis en empalizada (N). Figura obtenida de [13].

– Oligodendroglioma IDH-mutante y 1p/19-codeleted:

Suelen presentar un patrón clásico denominado en “huevo frito” en la tinción de hematoxilina-eosina. Se puede observar proliferación vascular en forma de red prominente de capilares delgados y ramificados, y observarse áreas de calcificación en hasta el 90% de los casos. Con respecto a la necrosis, suele ser menos extensa que en los glioblastomas, y el índice de proliferación celular Ki-67 es variable y tiende a correlacionarse con el grado tumoral.

- Grado 2: proliferación celular homogénea con células de núcleo redondo y claro, sin pleomorfismo marcado ni mitosis frecuentes. No presenta necrosis ni proliferación microvascular.
- Grado 3: mayor celularidad, anisocariosis, aumento de la actividad mitótica y en ocasiones presencia de necrosis. Proliferación microvascular con patrones glomeruloides con Ki-67 significativamente mayor.

– Glioblastoma IDH-wildtype:

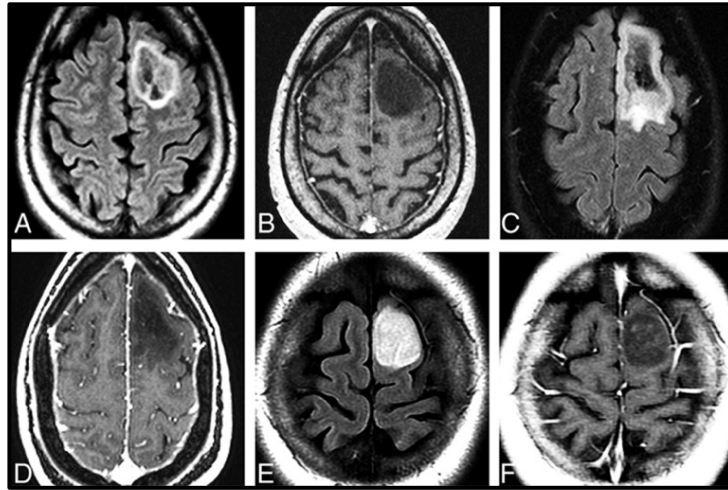
La mayoría presentan extensas zonas de necrosis y proliferación microvascular con alta celularidad y pleomorfismo nuclear. Las células tumorales presentan núcleos grandes, hipercromáticos e irregulares, con formas variables y mitosis frecuentes. Puede existir un infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por linfocitos y macrófagos, el cual se asocia frecuentemente con edema vasogénico alrededor del tumor. El índice medio de ki-67 suele ser del 30 % y los resultados de inmunohistoquímica de *GFAP*, *S-100*, *Olig-2* y *ATRX* suelen ser positivos en la mayoría de los glioblastomas [14].

Morfológicamente la histología de un astrocitoma IDH-mutante grado 4 es superponible a la de un glioblastoma IDH-wildtype, y por ello para su diferenciación es necesario realizar un análisis de la mutación *IDH*.

### 3.1.2 Diagnóstico:

Durante la última década, se ha producido un cambio en el paradigma diagnóstico de los tumores del SNC, ya que como veremos en el apartado 3.2, gracias a la nueva clasificación de la OMS de 2021, las alteraciones moleculares junto con la histopatología se han convertido en los pilares fundamentales del diagnóstico [15].

Las pruebas de imágenes junto con una historia clínica completa son la base del diagnóstico preoperatorio, siendo la resonancia magnética con gadolinio la prueba de imagen de referencia para el estudio de estos tumores del SNC [7]. Con respecto a los hallazgos radiográficos más característicos, se destacan una masa supratentorial mal delimitada, sin calcificaciones y generalmente unifocal, ya que solo el 20% de estos tumores son multicéntricos. Los glioblastomas tienen tendencia a invadir los hemisferios cerebrales, destacando los lóbulos frontales (23,6 %) y temporales (17,4%) [16], aunque una pequeña proporción puede aparecer en el tronco cerebral, el cerebelo y la médula espinal [17]. En las imágenes ponderadas en T2-FLAIR también son evidentes las hiperintensidades heterogéneas con márgenes mal delimitados que se mezclan con un extenso edema vasogénico, siendo posible observar además zonas de hemorragia en diferentes etapas de evolución y necrosis central [7,14]. Estas características radiológicas pueden observarse en la *Figura 2*.



**Figura 2. Imágenes de resonancia magnética (RM) cerebral de tumores en el lóbulo frontal izquierdo. Imágenes axiales de RM ponderadas en FLAIR (A, C y E) y en T1 (B, D y F). Figura obtenida de [16].**

Existen otras técnicas avanzadas de resonancia magnética (RM) que ayudan a diferenciar mejor los gliomas cerebrales de otras lesiones. Entre ellas hay que destacar la técnica de espectroscopia de RM, con la cual se pueden detectar alteraciones metabólicas, siendo muy útil para diferenciar los gliomas de alto y de bajo grado, ya que los gliomas de alto grado muestran niveles más bajos de N-acetil aspartato (NAA) y creatina, niveles más altos de lípidos/lactato y mayores proporciones de colina/NAA y colina/creatina. Otras pruebas avanzadas de RM son las imágenes ponderadas por difusión e imágenes ponderadas por perfusión. La diferencia sustancial entre estas dos técnicas es que en las imagen de perfusión se refleja el estado del lecho vascular tumoral, mientras que en las imágenes de difusión se pueden utilizar para evaluar indirectamente la celularidad del tumor a través de la medición de la difusividad del agua [7].

### 3.1.3 Tratamiento:

El tratamiento de referencia de los tumores gliales cerebrales consiste en una resección quirúrgica, para la cual se tiene en cuenta la edad y el estado de salud general, seguido de radioterapia, quimioterapia y Temozolomida (TMZ) como tratamiento adyuvante [3]. En un inicio solo se combinaba la resección con radioterapia, pero desde 2009 que se publicó el “Protocolo de tratamiento Stupp”, y se demostró que el tratamiento inicial combinado

con Temozolomida y radioterapia mejora la supervivencia en comparación con la radioterapia sola, se sigue este esquema de tratamiento [18].

Debido a que uno de los factores que determinan en gran medida posibles recaídas es el grado de resección que se lleve a cabo, se han desarrollado técnicas para maximizar la extensión de resección minimizando los déficits neurológicos, siendo una de estas técnicas el ácido 5-aminolevulínico (5-ALA), el cual se administra por vía oral causando con gran especificidad y sensibilidad una fluorescencia en el tejido tumoral. También la RM funcional, la Tractografía preoperatoria o el mapeo cortical intraoperatorio aportan información crucial para la planificación y para la resección [3,7]. Con respecto a la resección quirúrgica, existe un sistema de clasificación denominada “categorías RANO”, que determinan el tipo de resección en dependencia de la reducción relativa del volumen tumoral y del volumen residual absoluto del tumor, además de relacionar el pronóstico de los pacientes con la resección que ha sido llevada a cabo. En esta clasificación se definen cuatro clases de resección [19]:

- Clase 1. “Resección supramáxima”: Como resultado de la resección hay 0 cm<sup>3</sup> de tumor residual que capta contraste y  $\leq 5$  cm<sup>3</sup> de tumor residual que no capta contraste.
- Clase 2. “Resección máxima”:
  - Clase 2A (resección completa): Hay 0 cm<sup>3</sup> de tumor residual que capta contraste y  $>5$  cm<sup>3</sup> de tumor residual que no capta contraste.
  - Clase 2B (cerca de la resección total): Hay  $\leq 1$  cm<sup>3</sup> de tumor residual que capta contraste.
- Clase 3. “Resección submáxima”:
  - Clase 3A (resección subtotal): Hay  $\leq 5$  cm<sup>3</sup> de tumor residual que capta contraste.
  - Clase 3B (resección parcial): Hay  $> 5$  cm<sup>3</sup> de tumor residual que capta contraste.
- Clase 4. “Biopsia”: No hay reducción del volumen tumoral.

La radioterapia (RT) adyuvante después de la cirugía sigue siendo un pilar fundamental en el tratamiento, sin embargo, el momento óptimo de su realización sigue siendo una

cuestión controvertida. También, se ha demostrado que, en casos de tumores de baja agresividad y pequeños volúmenes tumorales, se pueden manejar únicamente con radiocirugía, y en los casos de recurrencia, la radioterapia está indicada para el control local de enfermedades ya que tiene un papel sintomático/paliativo importante [7,20].

Por otro lado, la inmunoterapia está ganando gran relevancia estos últimos años. Los primeros estudios se centraban en el diseño de inhibidores, como por ejemplo la terapia de combinación entre anti-CTLA-4 y anti-PD-1 que fue muy prometedora y efectiva; y de forma más reciente se está estudiando el uso de vacunas para mejorar la respuesta de los linfocitos T [3]. En la actualidad hay más de 100 terapias sistémicas en investigación, entre las que se incluyen la reutilización de fármacos, el uso de terapias dirigidas, terapias metabólicas, inmunoterapias y terapias virales [7].

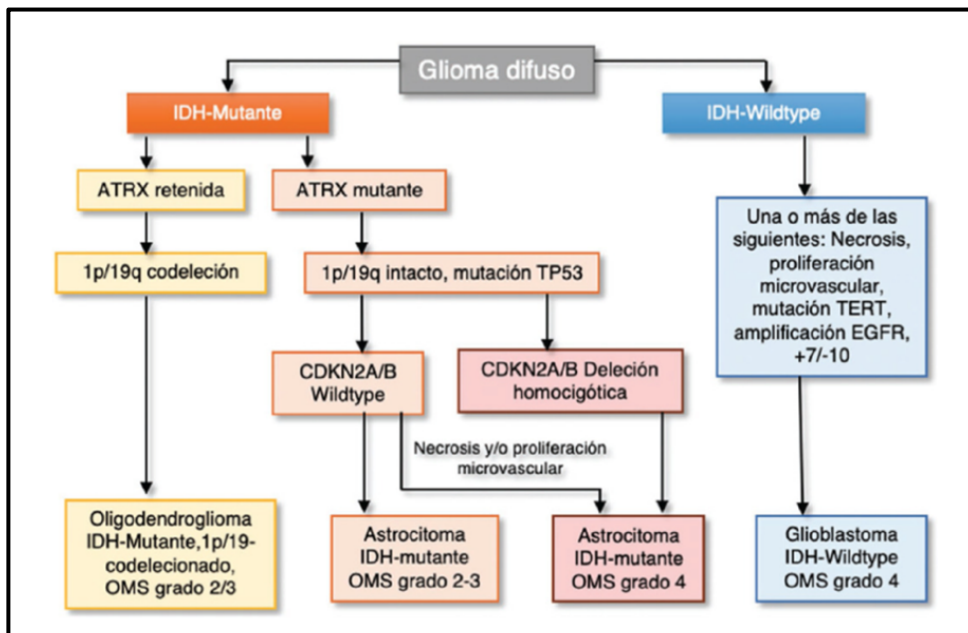
### 3.2 Nueva Clasificación OMS 2021:

La nueva clasificación de tumores del SNC publicada por la OMS en 2021 ha introducido cambios significativos que representan un importante avance en el paradigma diagnóstico de estas neoplasias; en particular, el capítulo dedicado a los gliomas difusos presenta una gran cantidad de modificaciones con respecto a la clasificación anterior de 2016, todo esto como resultado de una extensa revisión impulsada por los avances en genética molecular [15].

Las clasificaciones de los tumores del SNC se han basado tradicionalmente de forma exclusiva en características histopatológicas, pudiendo ser tales características muy heterogéneas dentro un mismo tumor, lo que resulta en posibles errores diagnósticos; no obstante, de forma reciente los marcadores moleculares han ganado importancia ya que además de parecer ser variables más uniformes, permiten clasificar de forma más precisa a estas neoplasias, aportando además información pronóstica de gran importancia [9,15,21]. La clasificación de 2016 fue la primera en introducir un diagnóstico integrado que combinaba las características histopatológicas clásicas con marcadores moleculares. Esto permitió mayor precisión diagnóstica, ya que incorporó las mutaciones en *IDH* y la codeleción *1p/19q*; sin embargo, la nueva versión de 2021 lleva este enfoque más allá, priorizando los datos moleculares para definir entidades tumorales de manera más uniforme.

Analizando detalladamente las variaciones entre ambas clasificaciones, podemos observar que los tumores astrocíticos difusos en la clasificación de 2016 [Anexo 3 y 4] se organizaban en 15 categorías diferentes: astrocitoma difuso grado II (IDH-mutado, IDH-Wildtype o NOS), oligodendroglioma grado II (IDH-mutado y 1p19q codeleciónado o NOS), oligoastrocitoma grado II (NOS), astrocitoma anaplásico grado III (IDH-mutado, IDH-Wildtype o NOS), oligodendroglioma anaplásico grado III (IDH-mutado y 1p19q codeleciónado o NOS), oligoastrocitoma anaplásico grado III (NOS), y glioblastoma grado IV (IDH-mutado, IDH-Wildtype o NOS). En esta clasificación, inicialmente se consideraban los parámetros histológicos como base para diferenciar los subtipos, y posteriormente se procedía al análisis de la mutación *IDH*, la cual podía ser IDH-mutante, IDH-wildtype o NOS (“not otherwise specified”, término utilizado en los casos donde no se disponía de estudios moleculares).

Sin embargo, en la clasificación actual el primer parámetro clasificatorio que aparece es la mutación *IDH*, lo que permite dividir todos los gliomas difusos según la presencia o ausencia de esta alteración. Por ello, como se puede apreciar en la *Figura 3*, los gliomas difusos de tipo adulto ahora constituyen solo 3 categorías: astrocitoma IDH-mutante, oligodendroglioma IDH-mutante y 1p/19-codeletado y glioblastoma IDH-wildtype [3,15].



**Figura 3: Esquema diagnóstico de gliomas difusos según la nueva clasificación WHO de 2021. Figura obtenida de [22].**

Comparando individualmente cada subgrupo de estos tumores se puede constatar que:

- Astrocitomas: en la clasificación anterior se clasificaban por el grado histopatológico como grado II (astrocitoma difuso) o III (astrocitoma anaplásico), y podían presentar o no la mutación *IDH*; en cambio, en la clasificación actual se definen exclusivamente como IDH-mutantes y se clasifican como CNS WHO 2, 3 o 4 en dependencia de la alteración *CDKN2A/B* y de aspectos histológicos [21].
- Oligodendrogliomas: la clasificación de oligodendrogliomas en la OMS 2021 refina los criterios establecidos en 2016, exigiendo la presencia obligatoria de mutación *IDH* y codeleción *1p/19q* para su diagnóstico, por ello los tumores que no cumplen con ambos marcadores ya no se consideran oligodendrogliomas, incluso en presencia de características histológicas similares.
- Glioblastoma: en la clasificación actual están limitados a tumores IDH-wildtype, y se han incorporado criterios moleculares adicionales, como son la mutación promotora de *TERT*, amplificación de *EGFR* y cambios en el número de copias de *+7/-10* [20].

Con respecto a los criterios para la clasificación histopatológica, éstos son los mismos que en la clasificación OMS de 2016, es decir, la necrosis y/o la proliferación microvascular es consistente con el grado 4. También se ha demostrado que la delección homocigota *CDKN2A/B* en los astrocitomas IDH-mutante es un marcador pronóstico negativo, y por ello deben diagnosticarse como astrocitoma IDH-mutante OMS grado 4 aunque haya falta de proliferación microvascular o necrosis [15].

En los glioblastomas IDH-wildtype, los parámetros mencionados anteriormente (la amplificación de *EGFR*, las mutaciones *TERTp*, la ganancia del cromosoma 7 y la pérdida del cromosoma 10) se han relacionado con un comportamiento más agresivo y, en consecuencia, un glioma difuso IDH-wildtype con al menos una de estas características moleculares permite un diagnóstico de glioblastoma IDH-wildtype WHO grado 4 incluso en ausencia de histopatología de glioblastoma [7].

Entre los cambios introducidos en esta clasificación también se incluye la eliminación del término "glioblastoma multiforme" [2], el uso de números arábigos en lugar de romanos para la clasificación gradual, y la exclusión de términos adicionales como "difuso" o "anaplásico" [13]. Asimismo, la obligatoriedad de los estudios moleculares elimina la ambigüedad de los casos previamente clasificados como NOS (Not Otherwise Specified).

### 3.3 Marcadores genéticos:

#### 3.3.1 Mutación *IDH 1/2*:

Como se observa en la nueva clasificación de la OMS de 2021, la mutación en la isocitrato deshidrogenasa 1 o 2 (*IDH1/2*) se ha convertido en el punto de ramificación definitorio en el diagnóstico de glioma cerebral difuso de tipo adulto [7].

El gen *IDH1* está ubicado en el cromosoma 2 (2q33) y codifica una enzima llamada IDH1, la cual participa en el ciclo del ácido cítrico, que es el principal productor de NADPH en el cerebro. El NADPH es un agente reductor celular muy necesario que forma parte de los procesos de desintoxicación, involucrados en la protección contra la toxicidad de las especies reactivas de oxígeno [23]. Por otro lado, el gen *IDH2* se localiza en el cromosoma 15 (15q26.1) y al igual que el gen *IDH1*, desempeña un importante papel en el control celular del daño oxidativo.

Las mutaciones *IDH* son frecuentes en las neoplasias malignas, y su estudio se puede realizar mediante secuenciación genética directa o con inmunohistoquímica [4], siendo la inmunohistoquímica una prueba indirecta que combina principios de inmunología e histología para detectar proteínas específicas mediante la interacción entre un antígeno y un anticuerpo específico. La variante más frecuente es la mutación *IDH1 R132H*, para la cual existe tinción inmunohistoquímica rápida, que utiliza el anticuerpo monoclonal de ratón anti-IDH1 R132 específico de la mutación [7,10]. La utilidad clínica de realizar secuenciación completa del gen *IDH* (para detectar mutaciones *IDH2* o *IDH1* no *R132H*) depende de la edad del paciente. En mayores de 55 años, si la inmunohistoquímica para *IDH1 R132H* es negativa, la probabilidad de detectar una mutación *IDH* rara es muy baja (aproximadamente 0,9%) [7,9] por ello la rentabilidad de realizar la prueba es menor. Sin embargo, es necesario comentar que la tasa global de mutaciones *IDH* en pacientes



mayores de 55 años sigue siendo clínicamente relevante, ya que como bien se observará posteriormente en este estudio, más del 7,5% de los pacientes en ese grupo presentaron mutaciones *IDH*.

Como ya se ha comentado, las mutaciones *IDH1* o *IDH2* son factores pronósticos positivos, y en varios metaanálisis actuales se ha demostrado que las mutaciones de *IDH* están asociadas tanto a una supervivencia general más larga, como a una mayor supervivencia libre de progresión independientemente del grado tumoral [17]. Este buen pronóstico se puede deber a varios factores; en primer lugar, debido a que los gliomas *IDH*-mutados presentan mayor respuesta a la terapia citotóxica (quimioterapia). Otro motivo puede ser que se demostró que la mutación *IDH1-R132H* se relaciona con una menor expresión de la vía de señalización WNT/ $\beta$ -catenina; esta menor expresión produce una disminución de glutatión intracelular y niveles más altos de especies reactivas de oxígeno, lo que induce a la apoptosis y reduce la proliferación celular [3].

### 3.3.2 Deleción *CDKN2A/B*:

Los genes *CDKN2A/B* (Inhibidor de la quinasa dependiente de la ciclina 2A/B) se localizan en el cromosoma 9 (9p21) y codifican las proteínas supresoras de tumores p14, p15 y p16, las cuales interactúan con CDK4 y CDK6 para inhibir la progresión del ciclo celular (mantienen a las células en la fase G1 del ciclo) [24]. Debido a la función que realizan, estas proteínas desempeñan un papel importante en la detección del estrés celular, en la regulación de la senescencia celular y la apoptosis durante las etapas de desarrollo y proliferación [25].

La deleción de estos dos genes se ha asociado a una gran cantidad de neoplasias humanas con fenotipos muy agresivos, entre los que se incluyen a los gliomas cerebrales y al meningioma. La pérdida de expresión de estos genes lo que promueve es el comportamiento tumoral maligno a través de la desregulación del ciclo celular y del aumento de la proliferación celular. Debido a la gran importancia clínica que tiene la presencia de esta deleción homocigota en astrocitomas *IDH*-mutantes, se ha considerado como característica suficiente para definir un tumor de grado 4 independientemente de las características histológicas, como bien se ha reflejado en la clasificación 2021 de la OMS de gliomas difusos [24]. Desde el punto de vista diagnóstico, la pérdida

homocigótica de *CDKN2A/B* puede detectarse tanto con técnicas de hibridación in situ fluorescente (FISH) como con secuenciación genómica.

Los mecanismos específicos mediante los cuales la delección homocigótica de *CDKN2A/B* en los astrocitomas IDH-mutantes contribuye a un peor desenlace clínico no se conocen por completo, aunque sí que se ha demostrado en estudios actuales que esta delección acelera más rápidamente la progresión tumoral en comparación con otras alteraciones de la vía del ciclo celular; sin embargo, no está demostrado que la actividad mitótica de los astrocitomas IDH-mutantes prediga el pronóstico clínico real de los pacientes [25].

### 3.3.3 Amplificación de *EGFR*, las mutaciones *TERTp*, la ganancia del cromosoma 7 y la pérdida del cromosoma 10:

Estas cuatro alteraciones moleculares son elementos claves en la progresión y pronóstico de los glioblastomas IDH-wildtype, estando su presencia asociada con un pronóstico desfavorable, y por ello la presencia de cualquiera de estas alteraciones moleculares permite clasificar a un glioblastoma IDH-wildtype como grado 4 incluso en ausencia de necrosis o proliferación microvascular.

- El gen *EGFR* está ubicado en el cromosoma 7 (7p11.2), y su amplificación produce una sobreexpresión de *EGFR*, promoviendo la proliferación celular, la invasión y la angiogénesis. Esa es la causa por la que los tumores con la amplificación de este gen suelen tener un comportamiento más agresivo con un peor pronóstico, particularmente cuando coexisten con otras alteraciones genéticas. Sin embargo, es necesario comentar que en la actualidad están en estudio varias terapias que van dirigidas específicamente a la amplificación *EGFR*, por ello se podría tratar de un factor pronóstico prometedor en un futuro cercano.
- El promotor del gen *TERT* está localizado en el cromosoma 5 (5p15.33) y codifica la subunidad catalítica de la telomerasa. Las mutaciones más comunes de este gen ocurren en las posiciones *C228T* y *C250T* del promotor y son a causa de una transición de citidina a timidina, lo que conduce a una reactivación de la telomerasa, permitiendo la replicación ilimitada de las células tumorales.

- La ganancia del cromosoma 7 es una alteración citogenética que está muy frecuentemente acompañada de la amplificación del gen *EGFR*. Esta alteración produce un aumento de la dosis génica de varios oncogenes ubicados en este cromosoma (genes *EGFR* y *MET*), lo que favorece la proliferación y supervivencia celular. La presencia de esta alteración como evento aislado no es suficiente para predecir el pronóstico de los pacientes, sin embargo, su relevancia aumenta cuando ocurre junto con otras alteraciones como la pérdida del cromosoma 10.
- La pérdida del cromosoma 10 contribuye al crecimiento tumoral y a la resistencia a la apoptosis, debido a que en el cromosoma 10 se localizan genes supresores de tumores clave (gen *PTEN* localizado en 10q23.31).

#### 3.3.4 Codeleción 1p/19q:

Esta codeleción se trata de una traslocación recíproca y desequilibrada entre el brazo corto del cromosoma 1 y el brazo largo del cromosoma 19. En esta traslocación se produce una pérdida alélica que afecta a varios genes supresores de tumores reguladores del crecimiento celular. De entre esos genes afectados, hay que destacar el gen *CIC* (19q13.2) que es regulador transcripcional supresor de tumores, y el gen *FUBP1* (1p31.1) que es regulador del protooncogén *MYC*.

En esta última clasificación de 2021 esta codeleción es definitoria de los oligodendrogliomas, teniendo los tumores con codeleción *1p/19q* casi invariablemente mutaciones *IDH* y *TERT*; y además siendo la codeleción *1p/19q* casi mutuamente excluyente con las mutaciones *ATRX* [17,26].

Con respecto al pronóstico, los oligodendrogliomas con codeleción *1p/19q* presentan tasas de supervivencia global que pueden superar los 10 años, incluso en casos de enfermedad avanzada, consolidando esta alteración como un marcador tanto pronóstico como predictivo muy favorable. Además, en estudios actuales se ha asociado esta alteración molecular con una mayor sensibilidad al tratamiento combinado de quimioterapia y radioterapia.

### 3.3.5 Mutación *ATRX*:

El gen *ATRX* está localizado en el cromosoma X (Xq21.1) y es un regulador epigenético que está involucrado en el remodelado de la cromatina, el ensamblaje de nucleosomas, la estabilidad del ADN, el mantenimiento de los telómeros y la deposición de histonas H3.3 en regiones genómicas transcripcionalmente silenciosas [17]. Este gen se encuentra frecuentemente mutado en los astrocitomas IDH-mutados, y con respecto al pronóstico de esta alteración, aunque no se ha observado que tenga influencia directa en la supervivencia de los astrocitomas IDH-mutados, sí que se ha observado que su presencia se asocia con unos mejores resultados en los glioblastomas IDH-wildtype [26].

La pérdida de la expresión nuclear de *ATRX* es detectable mediante inmunohistoquímica, y es altamente específica de los astrocitomas IDH-mutantes. En la práctica clínica se usa como criterio complementario para distinguir los astrocitomas IDH-mutantes de los oligodendrogliomas, ya que como se ha comentado en el anterior apartado, la codeleción *1p/19p* es casi excluyente con esta mutación, y por ello observando la nueva clasificación de la OMS de 2021 [Anexo 3], la mutación *ATRX* está ausente por definición en los oligodendrogliomas, ya que los oligodendrogliomas deben tener siempre la codeleción *1p/19q*.

### 3.3.6 Mutaciones histona H3.3:

La histona H3.3 es una variante de la histona H3 localizado en el brazo largo del cromosoma 1 (1q42.12). Está codificada por dos genes diferentes (gen *H3F3A* y gen *H3F3B*), y sus principales funciones son la regulación de la expresión génica mediante modificaciones epigenéticas y el mantenimiento de la estabilidad del genoma.

Las alteraciones del gen *H3F3A* están presentes hasta en un tercio de los gliomas malignos pediátricos, y se caracterizan por la afectación de dos aminoácidos (K27 y G34) [17]. En la última clasificación de la OMS de 2021 se observa que a los tumores con la alteración *H3F3A* se les clasifica directamente como gliomas difusos de alto grado de tipo pediátrico [17], que los gliomas difusos de línea media se caracterizan por la presencia de la mutación *H3 K27*, y los gliomas difusos hemisféricos por la mutación *H3 G34* [Anexo 1 y 2].

### 3.3.7 Metilación del promotor *MGMT*:

El estado de metilación del promotor *MGMT* es un proceso epigenético que reduce la expresión del gen *MGMT*, el cual es responsable de reparar los daños en el ADN causados por agentes alquilantes. En la actualidad, esta alteración está considerada como el biomarcador epigenético más relevante y predictivo en gliomas cerebrales, estando presente en aproximadamente el 40% de los glioblastomas IDH-wildtype.

La presencia de esta metilación en los glioblastomas los hace más sensibles al tratamiento con TMZ, ya que se ha demostrado que los niveles de expresión del gen *MGMT* en los gliomas pueden influir en las respuestas a los agentes alquilantes [3,7]. Los niveles altos de ARNm de *MGMT* y de la proteína MGMT se han relacionado con la resistencia al agente alquilante del ADN, mientras que la metilación de las islas CpG en la región promotora de *MGMT* aumenta la quimiosensibilidad a estos agentes [6]. Además, la asociación entre la inactivación del gen *MGMT* por metilación del promotor y la pérdida del brazo largo del cromosoma 10 (10q), dan como resultado una mayor sensibilidad a TMZ que la metilación del promotor o ausencia de 10q por si solos [17].

Sin embargo, a pesar de su gran utilidad, en algunos estudios recientes se ha evidenciado que no es un factor pronóstico homogéneo, ya que podría no mantenerse en ciertos subgrupos de pacientes. Por ejemplo, en un estudio reciente no se logró identificar una asociación pronóstica favorable en los pacientes que eran mayores de 50 años con metilación del promotor del gen *MGMT* y mutaciones *IDH1*. De mismo modo, en otro estudio se informó que la metilación del gen *MGMT* confiere mayor supervivencia principalmente cuando coexiste con mutaciones en el promotor de *TERT* [17].

A continuación en la *Tabla 1* se muestra un resumen con las principales características de los marcadores genéticos explicados.

Alteración molecular	Localización cromosómica	Asociaciones clave	Impacto pronóstico
IDH1/2	IDH1: Cromosoma 2 (2q33) IDH2: Cromosoma 15 (15q26)	Gliomas difusos en adultos	Buen pronóstico
CDKN2A/B	Cromosoma 9 (9p21)	Astrocitomas IDH-mutante	Mal pronóstico si deleción homocigota
EGFR	Cromosoma 7 (7p11.2)	Glioblastoma IDH-wildtype	Mal pronóstico
TERTp	Cromosoma 5 (5p15.33)	Glioblastoma IDH-wildtype	Mal pronóstico
+7/-10	Alteración citogénética	Glioblastoma IDH-wildtype	Mal pronóstico
Codeleción 1p/19q	Cromosoma 1 y 19 (1p, 19q)	Oligodendrogliomas	Muy buen pronóstico
ATRX	Cromosoma X (Xq21.1)	Astrocitomas IDH-mutante	Variable
Histona H3.3	Cromosoma 1 (1q42.12)	Gliomas pediátricos	Muy mal pronóstico
Metilación MGMT	Cromosoma 10 (10q26)	Glioblastoma IDH-wildtype	Buen pronóstico si se encuentra metilado

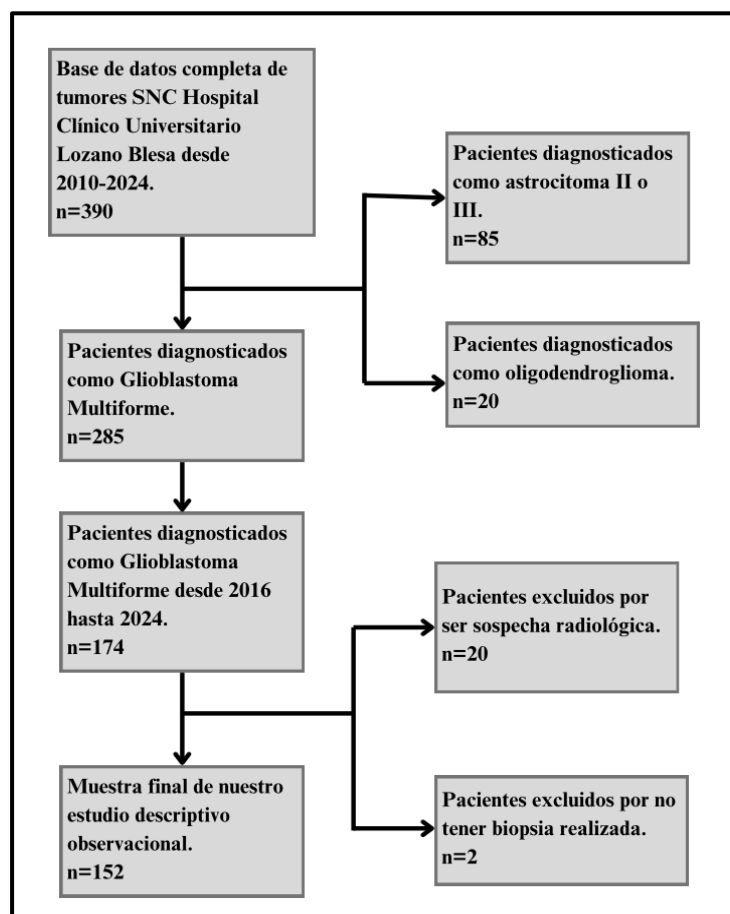
**Tabla 1. Principales alteraciones moleculares pronósticas en gliomas cerebrales.**

## 4. MATERIAL Y MÉTODOS

### 4.1 Diseño del estudio y datos de la muestra:

Se realizó un estudio observacional descriptivo retrospectivo con el objetivo de reclasificar una muestra de pacientes diagnosticados tradicionalmente como Glioblastoma Multiforme según la presencia de la mutación del gen *IDH1*, conforme a la clasificación de tumores del sistema nervioso central de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del año 2021, y así evaluar las posibles diferencias en supervivencia entre los subgrupos resultantes. Los datos recogidos en este estudio observacional han sido fecha nacimiento, sexo, fecha del procedimiento diagnóstico, tipo de manejo quirúrgico, localización del tumor, fecha de fallecimiento, diagnóstico anatomopatológico y diagnóstico inmunohistoquímico.

Con respecto al tamaño de nuestra muestra, hemos seguido a un grupo de 152 pacientes diagnosticados y tratados en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza desde 2016 hasta 2024. El estudio se ha delimitado temporalmente desde el año 2016 debido a que, a causa de la clasificación de la OMS de ese mismo año, se comenzó a realizar la prueba de inmunohistoquímica *IDH1* en los hospitales de manera casi sistemática. Como bien se puede apreciar en el diagrama de flujo de la *Figura 4*, se han excluido del estudio los pacientes diagnosticados mediante sospecha radiológica ( $n = 20$ ) debido a que no tienen biopsia realizada y por ello no hay diagnóstico anatomopatológico definitivo; y a los pacientes intervenidos en otros centros ( $n = 2$ ), ya que no existe muestra biológica suya en nuestro centro. De estos 152 pacientes, 137 (90,13%) tenían ya realizada la prueba de inmunohistoquímica *IDH1*, y a 15 (9,87%) de ellos se le solicitó posteriormente. De esos 137 con inmunohistoquímica *IDH1* realizada, 118 tenían un resultado negativo (IDH-wildtype), 18 un resultado positivo (IDH-mutado) y en 1 caso el *IDH1* no se pudo valorar correctamente.



**Figura 4. Diagrama de flujo de selección de la muestra de pacientes incluidos en el estudio.**

Como se puede observar en la *Tabla 2*, los pacientes tenían entre 41 y 82 años, con una edad media de 64,38 años. Hay 92 hombres y 60 mujeres en la muestra. Con respecto al tipo de resección que se realizó en cada caso, se observa que en 35 pacientes se realizó una resección completa, en 64 pacientes una resección subtotal, en 53 casos se realizó una biopsia, siendo uno una autopsia.

Características de la muestra (n=152)			
Sexo		Edad	
Hombres (%)	92 (60,53)	Mínima	41
Mujeres (%)	60 (39,47)	Máxima	82
Tipo de resección		Rango	41
Completa (%)	35 (20,03)	Media	64,38
Subtotal (%)	64 (42,1)	Mediana (IQR)	66,5 (58,25 - 73)
Biopsia (%)	53 (34,87)	Moda	66

**Tabla 2. Características generales de la muestra de pacientes estudiados. Rango (Edad máxima – Edad mínima); Rango intercuartílico (IQR) (Primer cuartil – Tercer cuartil).**



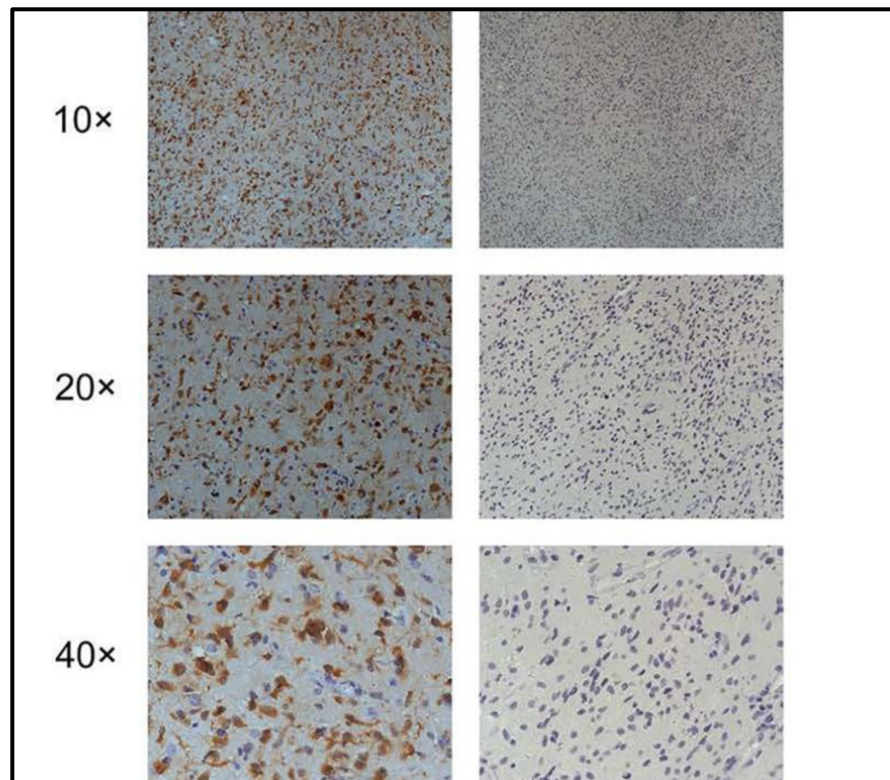
#### 4.2 Análisis inmunohistoquímico de mutación IDH1:

A esos 15 pacientes que nunca se les había realizado ninguna prueba diagnóstica específica para determinar el estado de la mutación *IDH* se les realizó la prueba de inmunohistoquímica *IDH1* para así poder completar todos los datos necesarios para realizar el estudio y la reclasificación de la muestra.

La inmunohistoquímica (IHQ) para *IDH1* es una técnica utilizada en anatomía patológica para detectar la mutación *IDH1 R132H* en tejidos tumorales, lo que permite diferenciar gliomas mutantes en *IDH1* de aquellos sin esta mutación en específico. El protocolo para la detección de la mutación *IDH1 R132H* mediante inmunohistoquímica comienza con la obtención de la muestra mediante biopsia o resección quirúrgica. Una vez obtenido el tejido, se fija con formalina y se realiza una inclusión en parafina para facilitar la manipulación de la muestra y así realizar cortes finos (3-5 micrómetros) mediante microtomía.

Una vez montado el tejido en un portaobjetos con poli-L-lisina, se procede al desparafinado y a la rehidratación de los tejidos, para posteriormente exponer los epítomos de la proteína mutante con calor húmedo en un buffer de citrato o EDTA (ácido etilendiaminotetraacético). Con suero o albúmina de suero bovino se lleva a cabo el bloqueo de la peroxidasa endógena y de las uniones inespecíficas, para posteriormente aplicar el anticuerpo primario anti-IDH1 R132H, junto con un anticuerpo secundario conjugado con la enzima peroxidasa de rábano (HRP) que facilita la detección de la proteína de interés. Para poder visualizar la reacción se emplea el sustrato cromogénico diaminobencidina (DAB), el cual genera una tinción marrón muy característica en las células con la proteína mutada, y finalmente para facilitar más la interpretación se realiza un contrateñido con hematoxilina de Mayer, la cual consigue resaltar los núcleos celulares.

Para terminar, el médico patólogo examina la muestra, y evalúa la intensidad y localización de la tinción aplicada. Un resultado positivo para la mutación *IDH1 R132H* se evidencia con una tinción marrón en el citoplasma de las células tumorales, mientras que las células tumorales sin esa mutación no presentan ninguna tinción, como bien podemos observar en la *Figura 5*.



**Figura 5. Detección de la mutación IDH1 R132H mediante inmunohistoquímica.** En la columna izquierda se observa una tinción positiva para IDH1 R132H, y en la columna derecha se muestra un resultado negativo para la misma mutación. Se presentan imágenes a diferentes aumentos (10×, 20× y 40×). Figura obtenida de [27].

Entre las ventajas de esta prueba destacan su alta sensibilidad y especificidad, su rapidez y su capacidad para preservar la arquitectura del tejido. Sin embargo, al tratarse de una prueba indirecta tiene también ciertas limitaciones. En primer lugar, la sensibilidad de la prueba es muy dependiente de la calidad del tejido y anticuerpos, de la presencia del antígeno en el tejido estudiado, y de la experiencia del médico patólogo que lo evalúa. Por ello, existen ciertas ocasiones en las cuales la prueba tiene menor sensibilidad y hay más riesgo de falsos resultados. Por otra parte, en el laboratorio del Hospital solo se puede realizar la inmunohistoquímica de la mutación *IDH1 R132H*, por ello existe la posibilidad de que algún paciente catalogado como *IDH* negativo, realmente se trate de un *IDH2* o *IDH1* no *R132H* positivo al cual no se le ha podido realizar la prueba específica para detectar su mutación.

#### 4.3 Análisis estadístico:

El criterio principal que se ha valorado ha sido la supervivencia global de los pacientes, evaluando las posibles diferencias de supervivencia entre los subgrupos. Este análisis de supervivencia se ha realizado mediante el método de Kaplan-Meier, y con la prueba de log-rank para realizar la comparación entre las curvas, considerando siempre un intervalo de confianza del 95% ( $p < 0,05$  para rechazar la hipótesis nula). Se ha calculado la mediana de supervivencia con sus respectivos límites superior e inferior de intervalo de confianza, aunque sin calcular el error estándar de la mediana, ya que al tratarse de una medida no paramétrica la variabilidad queda adecuadamente reflejada con el intervalo de confianza. Posteriormente, para evaluar la asociación entre el estado de la mutación *IDH* y las variables clínicas (edad y sexo), se ha realizado un análisis con tablas de contingencia, aplicando el test de Chi-cuadrado de Pearson para comparar las proporciones. En caso de que el número de casos esperados en alguna celda de la tabla fuera inferior a 5, se empleó el test exacto de Fisher siguiendo las recomendaciones para el análisis de datos categóricos en pequeñas muestras. En el *Anexo 14* se incluye un glosario de los términos estadísticos usados a lo largo del trabajo.

Para realizar todo este análisis estadístico se ha usado el programa R y RStudio con versión 4.4.3 en macOS Ventura 13.6.

#### 4.4 Aspectos éticos:

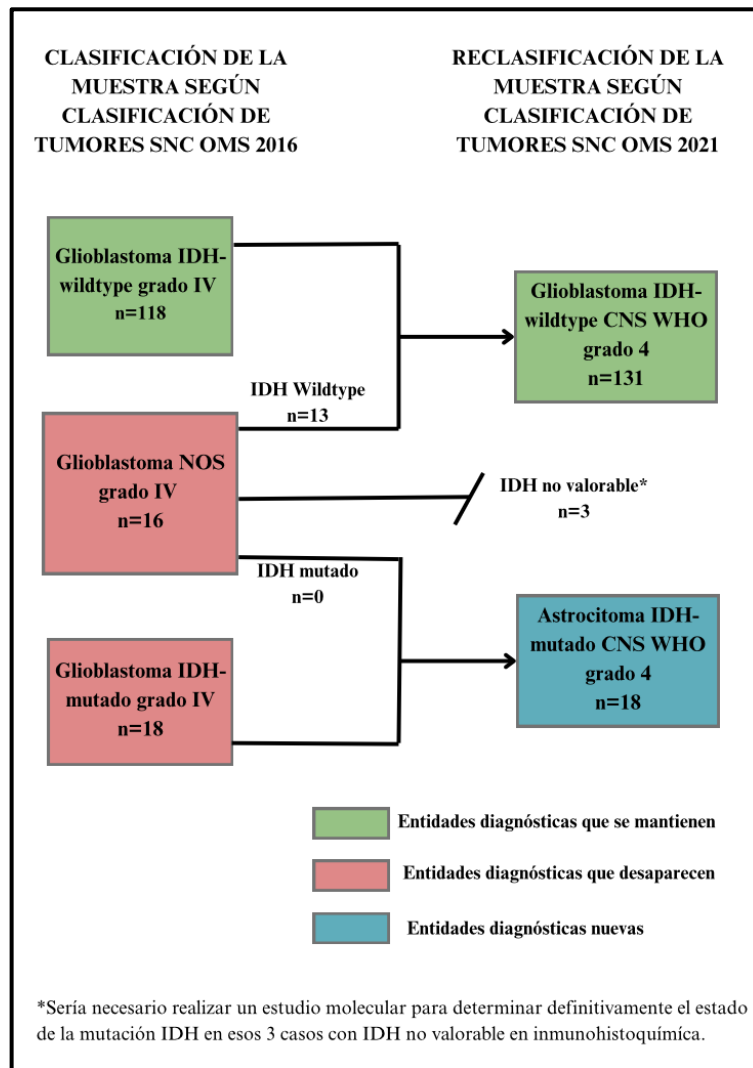
Este estudio al tratarse de un estudio observacional descriptivo retrospectivo que recoge datos clínicos de pacientes reales, para su posible realización se ha requerido una evaluación por el Comité de Ética de la Comunidad Autónoma de Aragón (Ceica), con dictamen favorable PI24/588 [*Anexo 13*]. Se han cumplido rigurosamente todas las normas éticas establecidas por el Comité, ya que todos los datos utilizados han sido anonimizados y tratados de manera que se garantizara en todo momento la confidencialidad de los pacientes.

## 5. RESULTADOS

La supervivencia de los pacientes se ha valorado calculando los días que transcurrieron desde la fecha de la primera intervención quirúrgica hasta la fecha de fallecimiento. Posteriormente para calcular los meses de supervivencia se ha considerado los meses como 30 días. El valor mínimo de supervivencia ha sido de 9 días (0,3 meses) y el máximo 3310 días (110,34 meses), siendo este último caso una paciente que sigue viva en la actualidad, por ello su valor de supervivencia se ha calculado desde la fecha de primera cirugía, hasta el día que se analizan los datos. Al paciente con menor supervivencia se le realizó únicamente una biopsia y era IDH-wildtype, y a la paciente con mayor supervivencia se le realizó una resección completa y era IDH-wildtype. En el momento del análisis de los datos 134 (88,16%) de los 152 pacientes de la muestra habían fallecido; y de esos 18 pacientes que no han fallecido, hay 9 mujeres y 9 hombres.

Por otro lado, de nuestra muestra de 152 pacientes, hay 6 censurados en las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier debido a que se perdió el seguimiento y no hay datos suficientes o porque fallecieron por causas totalmente diferentes a la estudiada en este trabajo.

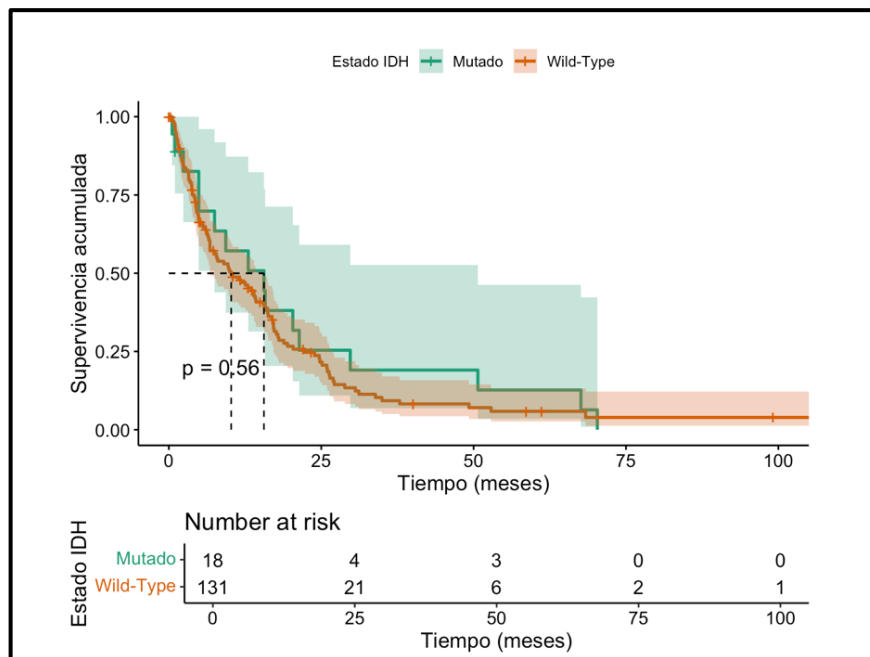
En este estudio, se han realizado curvas de Kaplan-Meier para evaluar la supervivencia de los pacientes en función del tipo de resección quirúrgica realizada, del sexo, de la edad, y del estado de la mutación *IDH1* (*Anexos 8, 9 y 10*), a todas ellas también se les ha aplicado el test de log-rank para determinar la posible existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los grupos comparados. Además de eso, se ha realizado una reclasificación de los pacientes en dependencia de la mutación *IDH*, siguiendo los nuevos criterios de la clasificación de la OMS 2021. Como ya se ha comentado en el apartado 4.2, a los 15 pacientes a los que nunca se les había realizado ninguna prueba específica y eran clasificados directamente como Glioblastomas NOS según la anterior clasificación de la OMS de 2016; se les realizó la prueba de inmunohistoquímica *IDH1*. El resultado ha sido que, de esos 15 pacientes, 13 son IDH-wildtype, y 2 pacientes tienen *IDH1* no valorable en la prueba. Con todos estos datos ya se puede completar la reclasificación de nuestra muestra, observable en la *Figura 6*.



**Figura 6. Reclasificación de la muestra.** Diagrama de flujo que muestra la transición diagnóstica de los tumores clasificados inicialmente bajo los criterios de la OMS 2016 a la nueva clasificación de la OMS 2021.

Posteriormente a esta reclasificación se ha realizado el análisis mediante Kaplan-Meier para comparar la supervivencia entre los glioblastomas y los astrocitomas (*Anexo 10*). En la *Figura 7* están representadas las curvas correspondientes a la supervivencia global de los pacientes estratificados según el estado del gen *IDH1*, diferenciando entre los subgrupos IDH-mutado (n = 18) e IDH-wildtype (n = 131). A lo largo del periodo de seguimiento, ambas curvas presentan trayectorias similares, con una ligera separación a favor del grupo IDH-mutado en los primeros meses. Respecto al análisis estadístico, el test de log-rank tiene un valor de  $p = 0,56$ , lo que indica que no se observaron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia entre los dos grupos. La mediana de supervivencia para el grupo de IDH-wildtype es de 10.23 meses y en el grupo de IDH-

mutado es de 15,60 meses con una amplia superposición de los intervalos de confianza del 95%. A partir de los 50 meses de seguimiento, se observa que el número de pacientes disminuye de forma notable en ambos grupos.

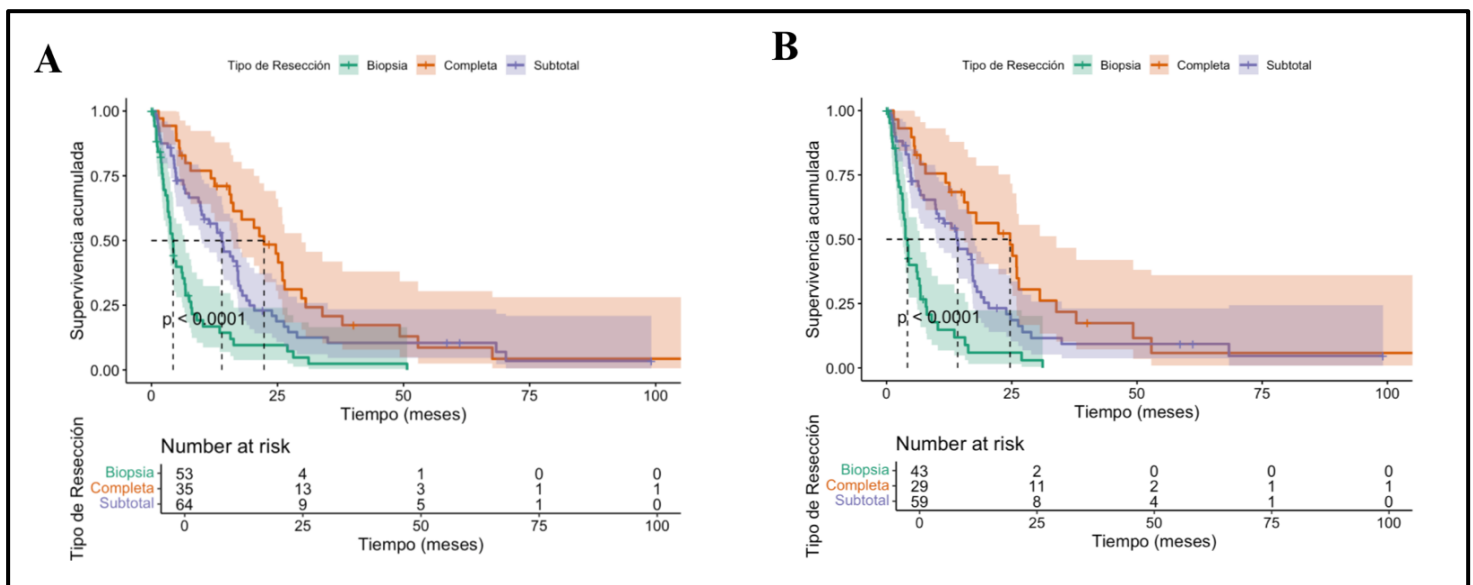


**Figura 7. Curva de supervivencia de Kaplan-Meier según el estado de la mutación IDH1.** Se incluyen los intervalos de confianza del 95% y la tabla de número de pacientes en riesgo.

Con tablas de contingencia se analizó la asociación entre el estado de la mutación *IDH1*, la edad y el sexo de los pacientes (*Anexo II*). En relación con el sexo, el 10% de los hombres presentó mutación *IDH1*, frente al 15.3% de las mujeres, aunque el test de Chi-cuadrado de Pearson no mostró diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $\chi^2 = 0.498$ ;  $p = 0.4805$ ). Observando los diferentes grupos de edad, la prevalencia de mutaciones *IDH1* fue mayor en los pacientes más jóvenes ( $\leq 55$  años), con un 27.6% de *IDH1*-mutados, frente al 8.8% en el grupo de 55-70 años y al 7.7% en mayores de 70 años; y en este caso el test de Chi-cuadrado indicó una diferencia significativa entre los grupos ( $\chi^2 = 8.19$ ;  $p = 0.0167$ ). Dado el bajo número de casos en algunas categorías, se realizó de forma adicional el test exacto de Fisher, el cual confirmó la significación estadística ( $p = 0.028$ ).

En la *Figura 8* se representan las curvas de Kaplan-Meier estratificadas según el tipo de resección quirúrgica realizada. La Figura A corresponde al análisis en la muestra

completa (n = 152), mientras que la Figura B muestra los resultados restringidos al subgrupo de glioblastomas IDH-wildtype (n = 131). En la muestra completa, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia en función del tipo de resección ( $p < 0.0001$ ), siendo la mediana de supervivencia mayor en los pacientes sometidos a una resección completa (22.33 meses), en comparación con aquellos con resección subtotal (13.97 meses) o con únicamente biopsia (4.30 meses). Este patrón se mantuvo en el subgrupo de glioblastomas IDH-wildtype, donde también se observaron diferencias significativas entre los tipos de resección ( $p < 0.0001$ ). En este caso la mediana de supervivencia tras resección completa fue de 24.67 meses, frente a 14.20 meses para la resección subtotal y 4.17 meses para los pacientes que solo recibieron biopsia.

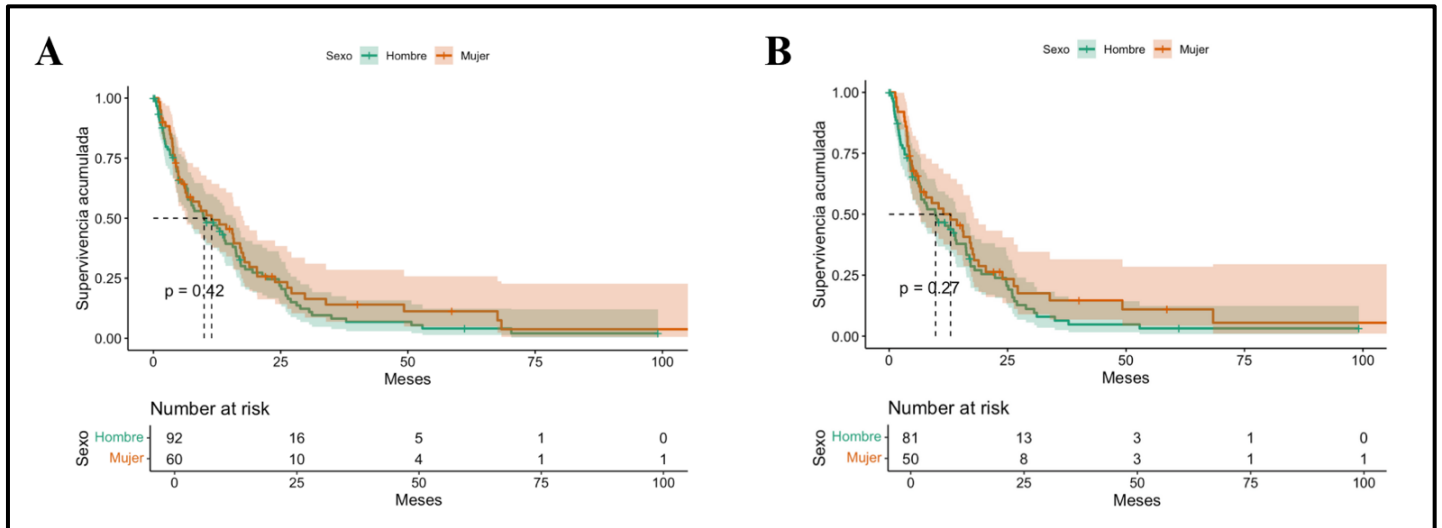


**Figura 8. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier según el tipo de resección quirúrgica.** Las curvas comparan la supervivencia entre pacientes sometidos a biopsia, resección subtotal y resección completa, incluyendo los intervalos de confianza del 95% y la tabla de número de pacientes en riesgo.

En la Figura 9 muestran las curvas de Kaplan-Meier de la supervivencia global según el sexo en la muestra completa (Gráfica A) y en la cohorte IDH-wildtype (Gráfica B).

En la muestra completa (n = 152), no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia entre hombres y mujeres ( $p = 0.424$ ), aunque la mediana de supervivencia fue algo superior en mujeres (11.43 meses) en comparación con hombres (9.97 meses). En el subgrupo de glioblastomas IDH-wildtype (n = 131), se

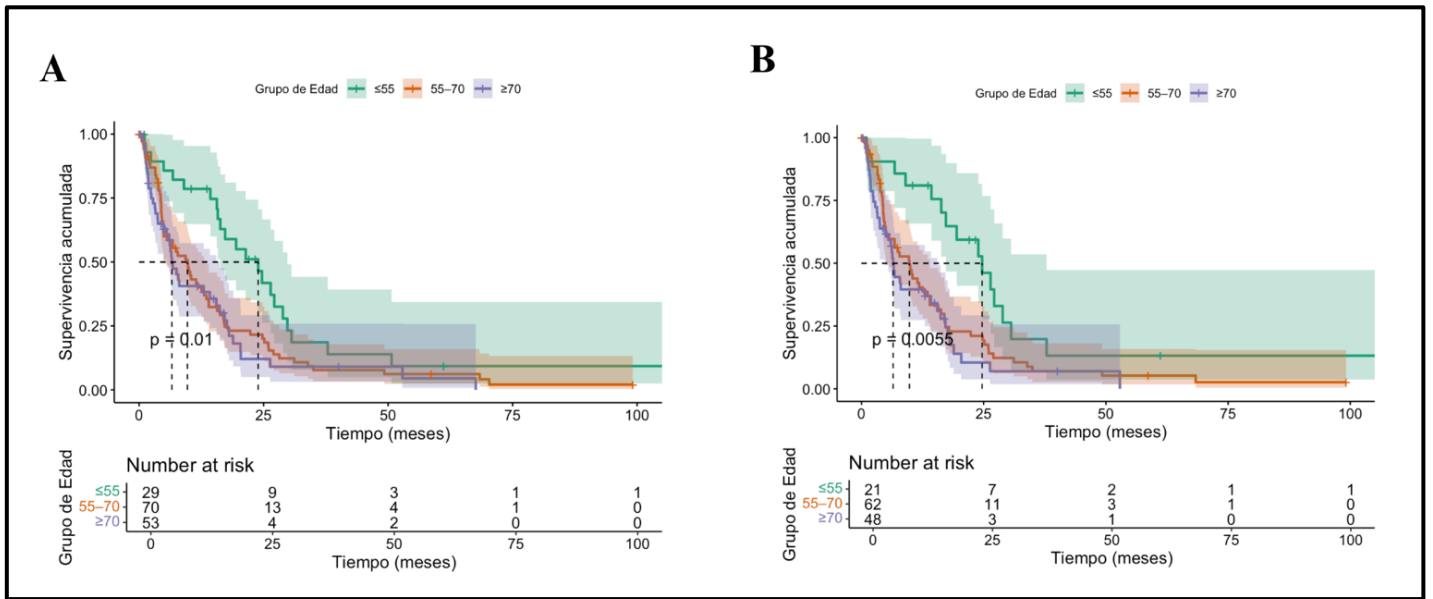
observó un patrón similar, siendo la mediana de supervivencia en mujeres de 12.97 meses, frente a 9.80 meses en hombres, pero de igual modo sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0.272$ ).



**Figura 9. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier según el sexo del paciente.** Las curvas muestran la supervivencia de hombres y mujeres. Se representan los intervalos de confianza del 95% y el número de pacientes en riesgo.

La Figura 10 representa la relación entre la edad y la supervivencia global, analizando las figuras A y B para la muestra completa y para los glioblastomas IDH-wildtype, como en las figuras anteriores. En la muestra completa, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la supervivencia entre los diferentes grupos de edades ( $p = 0.0104$ ). Los pacientes más jóvenes ( $\leq 55$  años) presentaron una mediana de supervivencia superior (23.90 meses) en comparación con los pacientes de 55–70 años (9.70 meses) y los mayores de 70 años (6.57 meses). Las curvas mostraron una separación progresiva con la edad, evidenciando una peor supervivencia en los grupos de mayor edad, siendo esta tendencia aún más pronunciada en el subgrupo de glioblastomas IDH-wildtype. En este grupo ( $n = 131$ ), también se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0.00554$ ), alcanzando los pacientes  $\leq 55$  años una mediana de supervivencia de 24.67 meses, mientras que los pacientes de 55–70 años y  $\geq 70$  años presentaron medianas de 9.80 y 6.47 meses respectivamente.





**Figura 10. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier según grupos de edad.**  
 Comparación de la supervivencia entre pacientes de  $\leq 55$  años, 55 – 70 años y  $\geq 70$  años,  
 incluyendo los intervalos de confianza del 95% y el número de pacientes en riesgo.

## 6. DISCUSIÓN

En este estudio se analizó la influencia diagnóstica y pronóstica de los marcadores genéticos, en especial, del estado de la mutación *IDH1*, en una cohorte de pacientes diagnosticados tradicionalmente como glioblastoma multiforme. Mediante la reclasificación bajo los criterios de la OMS 2021, se evidenció que una proporción de los casos inicialmente considerados y diagnosticados como glioblastomas multiforme se trataban en realidad de astrocitomas IDH-mutados grado 4 según las nuevas actualizaciones; lo que recalca una vez más la gran importancia de integrar los marcadores moleculares en el diagnóstico actual de los gliomas cerebrales.

Con respecto a la supervivencia en función del estado de *IDH*, en nuestra serie se observó una tendencia a una mayor supervivencia en los pacientes que tenían la mutación *IDH1*, aunque esta diferencia no consiguió alcanzar significación estadística. Estos resultados contrastan parcialmente con estudios previos internacionales, quienes reportaron una supervivencia claramente superior en astrocitomas IDH-mutados frente a los IDH-wildtype [29]. Esta falta de significación estadística puede deberse a varios factores; en primer lugar, el número de pacientes IDH-mutados de nuestra muestra fue limitado ( $n = 18$ ) en comparación con el número de pacientes IDH-wildtype ( $n = 131$ ), lo que reduce la potencia estadística para detectar posibles diferencias reales. Además, la heterogeneidad clínica dentro del grupo de pacientes IDH-mutado, la posible presencia de otros factores pronósticos desfavorables no recogidos en nuestro estudio (como la ausencia de metilación del promotor de *MGMT* o mutaciones de *TERT*), y el efecto de censuras han podido influir también en los resultados. En otros estudios previos de mayor tamaño, se ha confirmado que los gliomas que presentan alteraciones moleculares como la mutación *IDH*, presentan mayor supervivencia que los glioblastomas histológicos clásicos [14], lo cual refuerza aún más la necesidad de validar los hallazgos de nuestro estudio en series más amplias y homogéneas.

Al analizar la variable edad, nuestros resultados mostraron que los pacientes más jóvenes de la muestra tendieron a presentar una mejor supervivencia. Esta observación es coherente con la literatura internacional ya que se ha documentado que la edad avanzada es un factor de mal pronóstico independiente en gliomas cerebrales [30], reforzando el

impacto de la edad como un parámetro pronóstico relevante tras la nueva clasificación molecular del 2021.

En cuanto a la resección quirúrgica, se constató que la supervivencia fue mayor en aquellos pacientes a los que se les realizó resecciones completas frente a resecciones subtotales o biopsias, estando este resultado también en concordancia con la literatura reciente, ya que se demostró que la extensión de la resección constituye un predictor fiable de mejor supervivencia en glioblastoma IDH-wildtype [31].

Respecto al sexo, en nuestro análisis no se encontraron diferencias significativas de supervivencia entre hombres y mujeres. Este hallazgo coincide con lo reportado por un estudio semejante a este en el cual el sexo no fue un factor pronóstico independiente [29]; sin embargo, existen otros estudios en los cuales sí encontraron una peor supervivencia en varones [31]. Esta diferencia entre los diferentes estudios podría explicarse por diversidades poblacionales, factores genéticos o diferencias en los tratamientos recibidos en los diferentes grupos de pacientes.

En cuanto al análisis de asociación entre el estado mutacional de IDH y variables clínicas (edad y sexo), se observó una mayor prevalencia de IDH1-mutado en pacientes  $\leq 55$  años, diferencia que fue estadísticamente significativa en las tablas de contingencia. Este hallazgo refuerza la hipótesis inicial y coincide con lo descrito en la literatura [14,30], donde las mutaciones *IDH* se relacionan con gliomas de aparición más temprana. En cambio, no se hallaron diferencias significativas en la distribución de IDH-mutado según el sexo, resultado también congruente con otras cohortes, donde el sexo no se identificó como un factor asociado de forma independiente al estado de la mutación [29].

Entre las fortalezas de este trabajo destaca la aplicación de la nueva clasificación de la OMS 2021 a una muestra de pacientes que había sido categorizada previamente solo bajo criterios morfológicos, permitiendo así evaluar de manera más actualizada la supervivencia de estos pacientes. Además, el análisis estadístico mediante curvas de Kaplan-Meier y pruebas log-rank proporciona una evaluación consistente de la supervivencia en función de variables clínicas clave como el estado *IDH*, la edad, el sexo y el tipo de resección. Por otro lado, la muestra analizada, compuesta por 152 pacientes, ofrece un tamaño adecuado para realizar análisis descriptivos y de supervivencia global en la cohorte general, aunque el reducido número de casos en algunos subgrupos, como los pacientes IDH-mutados, han podido limitar la potencia estadística para detectar diferencias significativas. No obstante, el estudio aporta una visión actualizada basada en

criterios moleculares y clínicos, y la comparación crítica de los resultados con la literatura reciente fortalece la posible contextualización de los hallazgos.

Sin embargo, nuestro estudio presenta también varias limitaciones. Con respecto al diseño de nuestro estudio, los diseños retrospectivos y unicéntricos implican un mayor riesgo de sesgos de selección y limitan la posible generalización de los resultados. Además, observando la selección de la muestra, para poder estudiar todos los glioblastomas de la base de datos, habría sido necesario estudiar también a los pacientes diagnosticados tradicionalmente como Astrocitomas grado II/III. Esta última limitación queda explicada de manera extensa en el *Anexo 12*.

Como ya se ha comentado antes brevemente, el tamaño muestral en el subgrupo de pacientes IDH-mutados fue limitado, y por ello, la falta de significación estadística entre IDH-mutados e IDH-wildtype podría explicarse por la escasa potencia del análisis derivada del reducido tamaño muestral del subgrupo IDH-mutado, lo que sugiere un posible error estadístico tipo II, es decir no detectar diferencias significativas cuando realmente sí que existen esas diferencias.

Asimismo, no se dispuso de información molecular complementaria como el estado de metilación del promotor de *MGMT* o mutaciones de *TERT*, factores que la literatura reciente señala como cruciales en el pronóstico de los gliomas [14,29].

Con respecto a la prueba de inmunohistoquímica *IDH1*, comentado en el apartado 4.2, se presenta la limitación de que en el hospital no hay posibilidad de realizar la inmunohistoquímica para *IDH2*, por ello es posible que algún paciente clasificado como IDH-wildtype realmente se trate de un IDH2-mutado que no hemos podido determinar correctamente. En relación con esta última limitación, según la literatura reciente [12], en los pacientes mayores de 55 años cuando la prueba de inmunohistoquímica *IDH1* es negativa no es necesario realizar estudio molecular genético adicional para confirmar el resultado; sin embargo, en pacientes menores de 55 años, debido a que las mutaciones *IDH* son más frecuentes, en caso de inmunohistoquímica *IDH1* negativa es necesario realizar prueba molecular para completar el estudio. Por ello en nuestro estudio habría sido necesario confirmar los resultados *IDH1* negativos de esa franja de edad (menores de 55 años) con un estudio molecular complementario.

En general, nuestros hallazgos son coherentes con la literatura internacional reciente, y refuerzan la importancia y relevancia de integrar la caracterización molecular, especialmente el estado de *IDH*, en el diagnóstico y pronóstico de los gliomas cerebrales, teniendo en cuenta que la edad y el grado de resección quirúrgica emergen como factores pronósticos sólidos en el estudio de nuestra muestra.

Por todo ello, es necesario realizar en un futuros estudios multicéntricos con mayores tamaños muestrales y una caracterización molecular más extensa, para así poder confirmar y ampliar los resultados de este estudio.

## 7. CONCLUSIONES

Este trabajo ha permitido profundizar en la relevancia diagnóstica y pronóstica de los marcadores genéticos en los gliomas cerebrales, cumpliendo con el objetivo general planteado.

1. La aplicación de la clasificación de la OMS 2021 permitió una reclasificación más precisa de los gliomas cerebrales, identificando que una parte de los casos tradicionalmente diagnosticados como glioblastoma multiforme corresponden en realidad a astrocitomas IDH-mutados grado 4.
2. En relación con el segundo objetivo, el análisis de supervivencia evidenció una mayor mediana de supervivencia en los pacientes con mutación *IDH1* frente a los IDH1-wildtype, pero sin alcanzar significación estadística. A pesar de eso, la tendencia observada respalda la hipótesis de investigación inicial (H1), ya que está en línea con la evidencia científica que asocia la mutación *IDH* con un mejor pronóstico.
3. Respecto al tercer objetivo, se identificó una mayor prevalencia de IDH1-mutado en pacientes jóvenes (especialmente en el grupo  $\leq 55$  años), mientras que no se hallaron diferencias significativas según el sexo. Esto evidencia la importancia de considerar la edad como factor relacionado con el perfil molecular tumoral.
4. En cumplimiento del cuarto objetivo, el análisis por subgrupos reveló diferencias significativas en la supervivencia según la edad y el tipo de resección quirúrgica, siendo más favorable en pacientes más jóvenes y en aquellos que recibieron una resección completa. Por el contrario, no se observaron diferencias significativas según el sexo.

En conjunto, este estudio subraya la importancia de incorporar el perfil molecular en la valoración de los gliomas cerebrales, y pese a limitaciones del estudio, este trabajo puede contribuir al desarrollo de nuevas líneas de investigación prospectivas que integren marcadores genéticos adicionales, mejorando la estratificación pronóstica y la toma de decisiones terapéuticas.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Wu L, Wu W, Zhang J, Zhao Z, Li L, Zhu M, et al. Natural Coevolution of Tumor and Immunoenvironment in Glioblastoma. *Cancer Discov.* 2022;12(12):2820–2837. doi: 10.1158/2159-8290.CD-22-0196
2. Dundar B, Alsawas M, Masaadeh A, Conway K, Snow AN, Sompallae RR, et al. Molecular characterization and survival analysis of a cohort of glioblastoma, IDH-wildtype. *Pathol Res Pract.* 2024;257:155272. doi: 10.1016/j.prp.2024.155272
3. Verdugo E, Puerto I, Medina MÁ. An update on the molecular biology of glioblastoma, with clinical implications and progress in its treatment. *Cancer Commun (Lond).* 2022;42(11):1083–1111. doi: 10.1002/cac2.12361
4. Sipayya V, Sharma I, Sharma KC, Singh A. Immunohistochemical expression of IDH1 in gliomas: a tissue microarray-based approach. *J Cancer Res Ther.* 2012;8(4):598–601. doi: 10.4103/0973-1482.106567
5. Ohgaki H, Kleihues P. The definition of primary and secondary glioblastoma. *Clin Cancer Res.* 2013;19(4):764–772. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3002
6. Molinaro AM, Taylor JW, Wiencke JK, Wrensch MR. Genetic and molecular epidemiology of adult diffuse glioma. *Nat Rev Neurol.* 2019;15(7):405–417. doi: 10.1038/s41582-019-0220-2
7. Melhem JM, Detsky J, Lim-Fat MJ, Perry JR. Updates in IDH-Wildtype Glioblastoma. *Neurotherapeutics.* 2022;19(6):1705–1723. doi: 10.1007/s13311-022-01251-6
8. Wirsching H-G, Galanis E, Weller M. Glioblastoma. *Handb Clin Neurol.* 2016;134:381–397. doi: 10.1016/B978-0-12-802997-8.00023-2
9. Kurokawa R, Kurokawa M, Baba A, Ota Y, Pinarbasi E, Camelo-Piragua S, et al. Major Changes in 2021 World Health Organization Classification of

- Central Nervous System Tumors. *Radiographics*. 2022;42(5):1474–1493. doi: 10.1148/rg.210236
10. Tsuchiya T, Kawauchi D, Ohno M, Miyakita Y, Takahashi M, Yanagisawa S, et al. Risk Factors of Distant Recurrence and Dissemination of IDH Wild-Type Glioblastoma: A Single-Center Study and Meta-Analysis. *Cancers (Basel)*. 2024;16(16):2873. doi: 10.3390/cancers16162873
  11. Hadad S, Gupta R, Oberheim Bush NA, Taylor JW, Villanueva-Meyer JE, Young JS, et al. “De novo replication repair deficient glioblastoma, IDH-wildtype” is a distinct glioblastoma subtype in adults that may benefit from immune checkpoint blockade. *Acta Neuropathol*. 2024;147(1):3. doi: 10.1007/s00401-023-02654-1
  12. 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):481–484. doi: 10.1007/s00401-018-1808-0
  13. Reuss DE. Updates on the WHO diagnosis of IDH-mutant glioma. *J Neurooncol*. 2023;162(3):461–469. doi: 10.1007/s11060-023-04250-5
  14. Guo X, Gu L, Li Y, Zheng Z, Chen W, Wang Y, et al. Histological and molecular glioblastoma, IDH-wildtype: a real-world landscape using the 2021 WHO classification of central nervous system tumors. *Front Oncol*. 2023;13:1200815. doi: 10.3389/fonc.2023.1200815
  15. Torp SH, Solheim O, Skjulsvik AJ. The WHO 2021 Classification of Central Nervous System tumours: a practical update on what neurosurgeons need to know—a minireview. *Acta Neurochir (Wien)*. 2022;164(9):2453–2464. doi: 10.1007/s00701-022-05301-y
  16. Osborn AG, Louis DN, Poussaint TY, Linscott LL, Salzman KL. The 2021 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: What Neuroradiologists Need to Know. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2022;43(7):928–937. doi: 10.3174/ajnr.A7462



17. Śledzińska P, Bebyn MG, Furtak J, Kowalewski J, Lewandowska MA. Prognostic and Predictive Biomarkers in Gliomas. *Int J Mol Sci.* 2021;22(19):10373. doi: 10.3390/ijms221910373
18. Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJ, Janzer RC, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol.* 2009;10(5):459–466. doi: 10.1016/S1470-2045(09)70025-7
19. Karschnia P, Young JS, Dono A, Häni L, Sciortino T, Bruno F, et al. Prognostic validation of a new classification system for extent of resection in glioblastoma: A report of the RANO resect group. *Neuro Oncol.* 2023;25(5):940–954. doi: 10.1093/neuonc/noac193
20. Halasz LM, Attia A, Bradfield L, Brat DJ, Kirkpatrick JP, Laack NN, et al. Radiation Therapy for IDH-Mutant Grade 2 and Grade 3 Diffuse Glioma: An ASTRO Clinical Practice Guideline. *Pract Radiat Oncol.* 2022;12(5):370–386. doi: 10.1016/j.prro.2022.05.004
21. Louis DN, Perry A, Wesseling P, Brat DJ, Cree IA, Figarella-Branger D, et al. The 2021 WHO classification of tumors of the central nervous system: A summary. *Neuro Oncol.* 2021;23(8):1231–51. doi: 10.1093/neuonc/noab106
22. García-Lezama M, Carrillo-Ruiz JD, Moreno-Jiménez S, Roldán-Valadez E. WHO CNS5 2021 includes specific mutations in gliomas that can be identified with MRI quantitative biomarkers. *Gac Med Mex.* 2023;159(2):161–168. doi: 10.24875/GMM.M22000757
23. Priambada D, Thohar Arifin M, Saputro A, Muzakka A, Karlowee V, Sadhana U, et al. Immunohistochemical Expression of IDH1, ATRX, Ki67, GFAP, and Prognosis in Indonesian Glioma Patients. *Int J Gen Med.* 2023;16:393–403. doi: 10.2147/IJGM.S397550
24. Morshed RA, Nguyen MP, Cummins DD, Saggi S, Young JS, Haddad AF, et al. CDKN2A/B co-deletion is associated with increased risk of local and

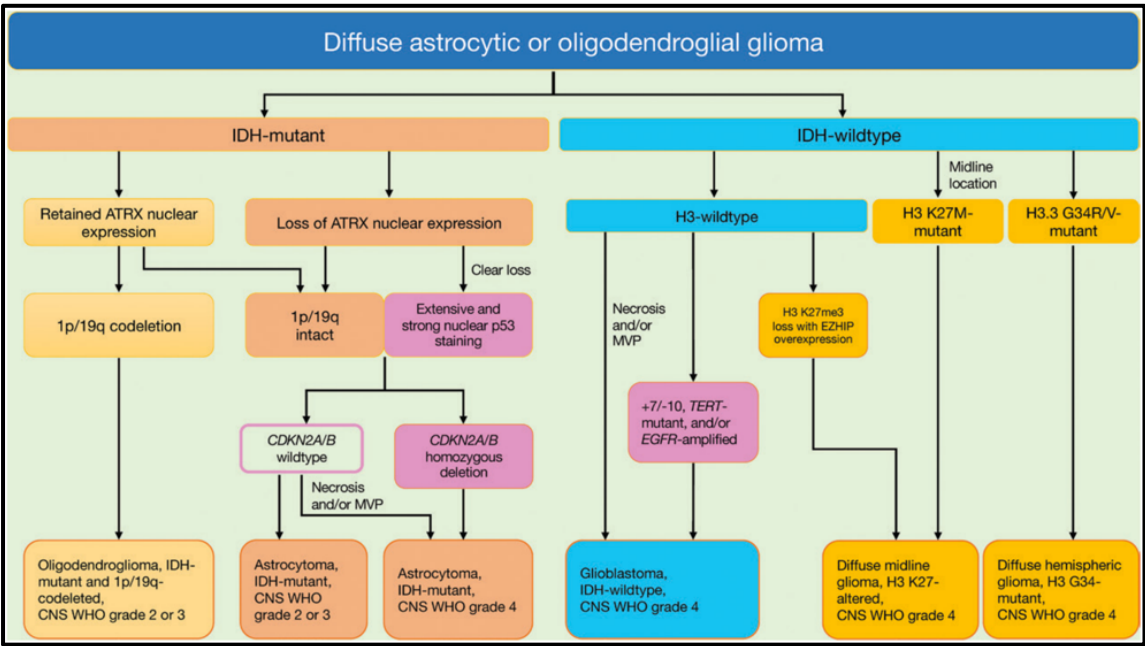
- distant intracranial recurrence after surgical resection of brain metastases. *Neurooncol Adv.* 2023;5(1):1–10. doi: 10.1093/noajnl/vdad007
25. Fortin Ensign SP, Jenkins RB, Giannini C, Sarkaria JN, Galanis E, Kizilbash SH. Translational significance of CDKN2A/B homozygous deletion in isocitrate dehydrogenase-mutant astrocytoma. *Neuro Oncol.* 2023;25(1):28–36. doi: 10.1093/neuonc/noac205
  26. Pekmezci M, Rice T, Molinaro AM, Walsh KM, Decker PA, Hansen H, et al. Adult infiltrating gliomas with WHO 2016 integrated diagnosis: additional prognostic roles of ATRX and TERT. *Acta Neuropathol.* 2017;133(6):1001–1016. doi: 10.1007/s00401-017-1690-1
  27. Cai J, Zhang C, Zhang W, Wang G, Yao K, Wang Z, et al. ATRX, IDH1-R132H and Ki-67 immunohistochemistry as a classification scheme for astrocytic tumors. *Oncoscience.* 2016;3(7–8):258–265. doi: 10.18632/oncoscience.317
  28. Sinning M. Clasificación de los tumores cerebrales. *Rev Médica Clínica Las Condes.* 2017;28(3):339–342. doi: 10.1016/j.rmclc.2017.05.002
  29. Stoyanov GS, Lyutfi E, Georgieva R, Georgiev R, Dzhenkov DL, Petkova L, et al. Reclassification of Glioblastoma Multiforme According to the 2021 World Health Organization Classification of Central Nervous System Tumors: A Single Institution Report and Practical Significance. *Cureus.* 2022;14(2). doi: 10.7759/cureus.21822
  30. Mortensen D, Uhløi BP, Lukacova S, Alsner J, Stougaard M, Nyengaard JR. Impact of new molecular criteria on diagnosis and survival of adult glioma patients. *IBRO Neurosci Rep.* 2022;13:299–305. doi: 10.1016/j.ibneur.2022.09.005
  31. Mijderwijk H-J, Nieboer D, Incekara F, Berger K, Steyerberg EW, van den Bent MJ, et al. Development and external validation of a clinical prediction model for survival in patients with IDH wild-type glioblastoma. *J Neurosurg.* 2022;137(4):914–923. doi: 10.3171/2021.10.JNS211261

9. ANEXOS:

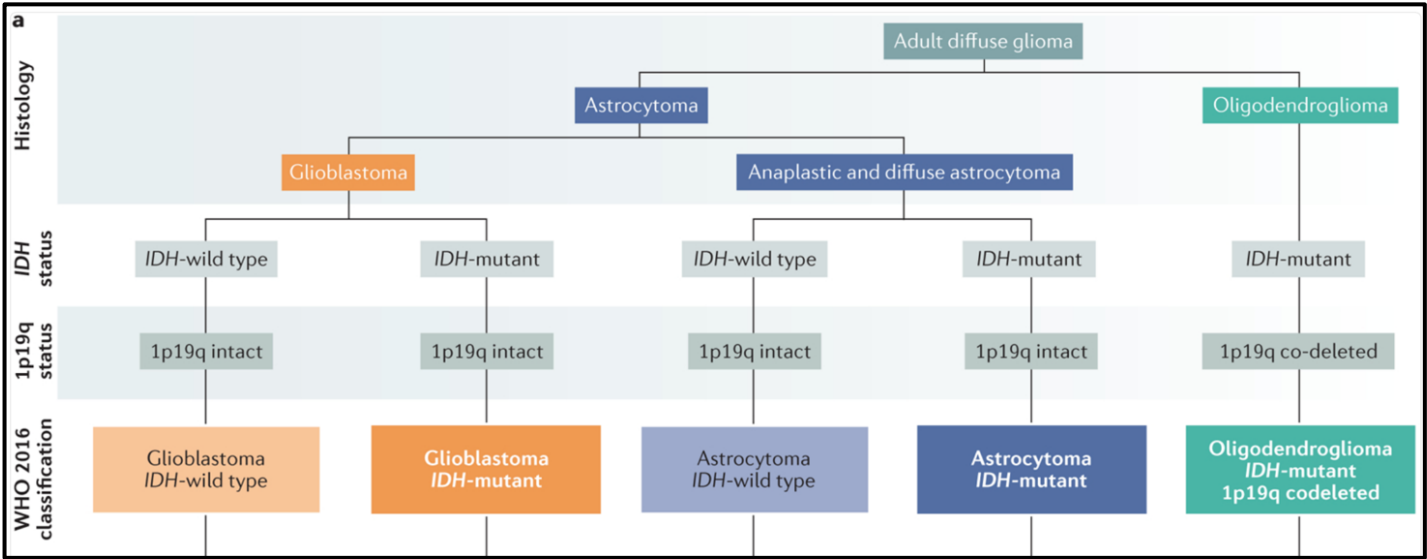
*Anexo 1. Clasificación de los gliomas difusos de tipo adulto y pediátrico según la OMS 2021. Imagen obtenida de [17].*

Familias	Tipos
Gliomas difusos de tipo adulto	Astrocitoma, mutante IDH
	Oligodendroglioma, IDH-mutante y 1p/19q-codeleted
	Glioblastoma, IDH-tipo salvaje
Gliomas difusos de bajo grado de tipo pediátrico	Astrocitoma difuso, alterado por MYB- o MYBL 1
	Glioma angiocéntrico
	Tumor neuroepitelial polimórfico de bajo grado de los jóvenes
	Glioma difuso de bajo grado, alterado por la vía MAPK
Gliomas difusos de alto grado de tipo pediátrico	Glioma difuso de la línea media, H3 K27 alterado
	Glioma hemisférico difuso, mutante H3 G34
	Glioma difuso de alto grado de tipo pediátrico, tipo salvaje H3 e IDH-tipo salvaje
	Glioma hemisférico de tipo infantil
Gliomas astrocíticos circunscritos	Astrocitoma pilocítico
	Astrocitoma de alto grado con características piloides
	Xantastrocitoma pleomórfico
	Astrocitoma de células gigantes subependimima
	Glioma de cordoides
	Astroblastoma, MN1-alterado

*Anexo 2. Algoritmo diagnóstico de gliomas difusos según la clasificación OMS 2021 ampliado. Imagen obtenida de [9].*



**Anexo 3. Algoritmo diagnóstico de gliomas difusos según la clasificación OMS 2016.**  
 Imagen obtenida de [6].



**Anexo 4. Clasificación de los gliomas difusos de los gliomas de bajo y alto grado según la clasificación OMS de 2016.** Imagen obtenida de [28].

GLIOMAS DE BAJO GRADO	DIAGNÓSTICO OMS 2016	GRADO OMS
<b>Astrocitoma difuso</b>	Astrocitoma difuso IDH mutado	Grado II
	Astrocitoma difuso IDH nativo	Grado II
	Astrocitoma difuso NOS	Grado II
<b>Oligodendroglioma</b>	Oligodendroglioma IDH mutado y 1p19q codeletado	Grado II
	Oligodendroglioma NOS	Grado II
<b>Oligoastrocitoma</b>	Oligoastrocitoma NOS	Grado II
<b>GLIOMAS ALTO GRADO</b>		
<b>Astrocitoma anaplásico</b>	Astrocitoma anaplásico IDH mutado	Grado III
	Astrocitoma anaplásico IDH nativo	Grado III
	Astrocitoma anaplásico NOS	Grado III
<b>Oligodendroglioma anaplásico</b>	Oligodendroglioma anaplásico IDH mutado y 1p/19q codeletado	Grado III
	Oligodendroglioma anaplásico NOS	Grado III
<b>Oligoastrocitoma anaplásico</b>	Oligoastrocitoma NOS	Grado III
<b>Glioblastoma</b>	Glioblastoma IDH mutado	Grado IV
	Glioblastoma IDH nativo	Grado IV
	Glioblastoma NOS	Grado IV

**Anexo 5. Localización anatómica de los tumores en la muestra.**

Localización del tumor	
Lóbulo frontal (%)	30 (19,73)
Lóbulo temporal (%)	35 (23,03)
Lóbulo occipital (%)	16 (10,52)
Sistema ventricular (%)	9 (5,92)
Cuerpo calloso (%)	10 (6,58)
Ganglios basales (%)	9 (5,92)
Ínsula (%)	3 (1,97)
Glándula pineal (%)	1 (0,66)

**Anexo 6. Distribución de las variables categóricas en la muestra (sexo, estado IDH, edad y tipo de resección).**

Distribución de las variables categóricas			
Variablen	Grupo	n	%
Sexo	Hombre (H)	92	60.53%
	Mujer (M)	60	39.47%
Estado IDH	Wildtype	131	86.18%
	Mutado	18	11.85%
	No valorable	3	1.97%
Grupos de edad	≤55	29	19.08%
	55-70	70	46.05%
	≥70	53	34.87%
Tipo de resección	Completa	35	23.03%
	Subtotal	64	42.10%
	Biopsia	53	34.87%

**Anexo 7. Caracterización descriptiva de la muestra: edad y supervivencia (variables continuas).**

Caracterización descriptiva de la muestra						
	Media	Mediana	Valor mínimo	Valor máximo	Desviación estándar (SD)	n
Edad	64.38	66.5	41	82	9.82	152
Supervivencia	14.64	7.95	0.3	110,34	17.81	152

**Anexo 8. Resultados estadísticos de las curvas de supervivencia en la muestra completa (n=152).**

Estudio estadístico de las gráficas con la muestra completa (n=152)								
Variable		Mediana de supervivencia			Número total (n)	Chi cuadrado (χ2)	Grados de libertad	Valor de p
		Estimación	Límite superior IC	Límite inferior IC				
Sexo	Hombre (H)	9.97	16.17	6.73	92	0.64	1	0.424
	Mujer (M)	11.43	17.63	6.30	60			
Resección	Completa	22.33	29.77	16.23	35	32.47	2	<0.0001
	Subtotal	13.97	17.17	9.97	64			
	Biopsia	4.30	6.57	3.27	53			
Edad	≤55	23.90	29.77	16.30	29	9.13	2	0.0104
	55-70	9.70	13.53	4.93	70			
	≥70	6.57	16.17	5.50	53			

**Anexo 9. Resultados estadísticos de las curvas de supervivencia en la cohorte de glioblastomas IDH-wildtype (n=131).**

Estudio estadístico de las gráficas con la muestra de glioblastomas IDH-Wildtype (n=131)								
Variable		Mediana de supervivencia			Número total (n)	Chi cuadrado ( $\chi^2$ )	Grados de libertad	Valor de p
		Estimación	Límite superior IC	Límite inferior IC				
Sexo	Hombre (H)	9.80	16.17	6.73	81	1.21	1	0.272
	Mujer (M)	12.97	17.90	6.30	50			
Resección	Completa	24.67	33.90	15.50	29	35.25	2	<0.0001
	Subtotal	14.20	17.27	9.97	59			
	Biopsia	4.17	6.73	3.27	43			
Edad	≤55	24.67	37.87	17.27	21	10.39	2	0.00554
	55-70	9.80	13.97	5.63	62			
	≥70	6.47	15.50	4.87	48			

**Anexo 10. Resultados estadísticos de la supervivencia en glioblastomas IDH-wildtype versus astrocitomas IDH-mutados (n=149).**

Estudio estadístico de la gráfica de glioblastomas IDH-Wildtype vs astrocitomas IDH-mutado (n=149)								
Variable		Mediana de supervivencia			Número total (n)	Chi cuadrado ( $\chi^2$ )	Grados de libertad	Valor de p
		Estimación	Límite superior IC	Límite inferior IC				
IDH	Wildtype	10.23	15.5	6.77	131	0.34	1	0.558
	Mutado	15.60	50.7	7.50	18			

**Anexo 11. Prevalencia de la mutación IDH en relación con sexo y grupos de edad.**

Prevalencia de la mutación IDH						
Comparación	Grupo	n IDH-Mutado	% IDH-Mutado	Chi cuadrado ( $\chi^2$ )	Grados de libertad	Valor de p
IDH vs Sexo	Hombre (H)	9	10.00%	0.50	1	0.4805
	Mujer (M)	9	15.25%			
IDH vs Edad	$\leq 55$	8	27.59%	8.19	2	0.0167 ( $\chi^2$ ) / 0.028 (Fisher)
	55-70	6	8.82%			
	$\geq 70$	4	7.69%			

**Anexo 12. Limitación en la selección muestral y análisis de astrocitomas reclasificados como glioblastomas según la OMS 2021.**

Una de las principales limitaciones de este trabajo radica en el enfoque muestral utilizado, debido a que la muestra de nuestro estudio sólo incluye a los pacientes diagnosticados tradicionalmente como glioblastoma multiforme. Posteriormente lo que hemos hecho es en dependencia del estado de la mutación IDH reclasificarlos como glioblastoma IDH-wildtype o astrocitomas IDH-mutante siguiendo la clasificación de la OMS de 2021. En cambio, al igual que han existido casos de glioblastomas que son ahora astrocitomas, también existen casos de pacientes diagnosticados tradicionalmente como astrocitomas grado II o III que con la nueva clasificación del 2021 ahora serían diagnosticados como glioblastomas, ya que son IDH-wildtype. Por ello, para hacer un estudio completo de todos los glioblastomas IDH-wildtype de la base de datos del hospital y estudiar su comportamiento, no solo hay que mirar a los pacientes diagnosticados tradicionalmente como glioblastoma multiforme, sino que también hay que estudiar a los diagnosticados como astrocitomas grado II o III.

En la base de datos general de gliomas cerebrales del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa desde 2010 hay 85 pacientes diagnosticados como astrocitoma II o III (Figura 5), en cambio si limitamos temporalmente desde 2016 (criterio usado en el trabajo) la cifra se reduce a 44 pacientes. De esos 44 pacientes, 3 (6,82%) pacientes no tienen muestra biológica en el centro debido a que la cirugía se realizó en otro hospital; a 5 (11,36%) pacientes no se les ha realizado la prueba de inmunohistoquímica IDH1; y el 36 (81,82%) restante sí que tienen realizada la prueba de inmunohistoquímica IDH1.

De esos 36 pacientes con la prueba realizada, 15 (41,67%) pacientes dieron positivo en la prueba, es decir fueron IDH-mutado; 18 (50%) pacientes dieron negativo, IDH-wildtype; y 3 (8,33%) pacientes tuvieron resultado no valorable.

Con estos datos se pueden llegar a varias conclusiones, en primer lugar, en los pacientes con resultado positivo, en este caso 15 pacientes, se confirmaría que se tratan de astrocitomas IDH-mutado según la clasificación de la OMS de 2021. Es decir, esos pacientes diagnosticados tradicionalmente como astrocitomas, estaban bien clasificados y la inmunohistoquímica lo ha confirmado.

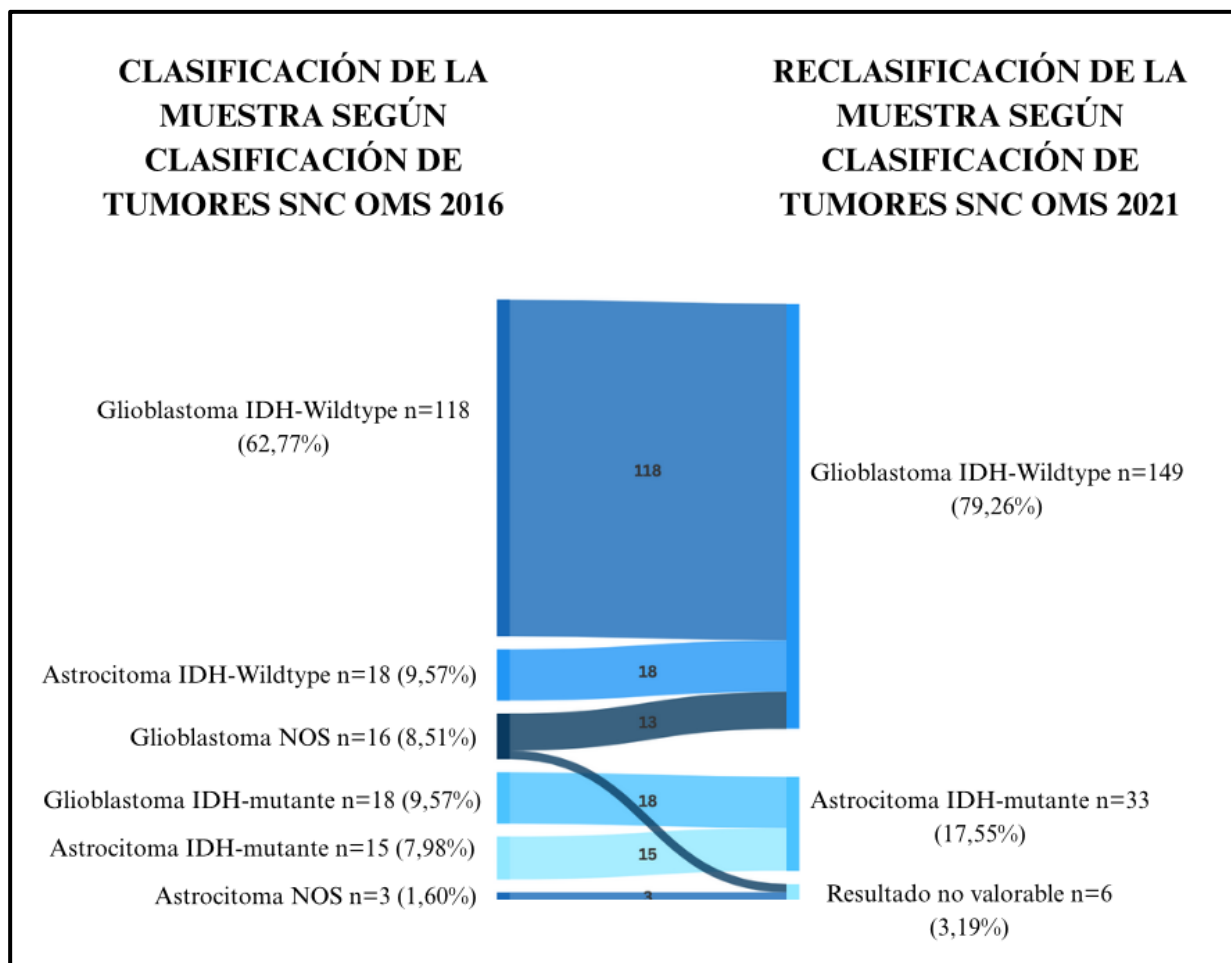
Por otro lado, los pacientes a los que la prueba les dio negativo, es necesario tener en cuenta más aspectos, ya que pueden darse varias situaciones. La primera puede ser que coincida el resultado IDH-wildtype con las características histopatológicas de la muestra, es decir que se diagnosticara anteriormente como astrocitoma de alto grado con características de gran malignidad con necrosis o proliferación microvascular, y por ello podría encajar con el nuevo diagnóstico de glioblastoma IDH-wildtype, ya que como se ha comentado anteriormente en el apartado 3.1.1 la histología de un astrocitoma de alto grado es superponible a la de un glioblastoma. En este caso el análisis de otras alteraciones moleculares que son muy características de glioblastoma (la mutación promotora de *TERT*, amplificación de *EGFR* y cambios en el número de copias de +7/-10) nos podría confirmar más aun que ese resultado de *IDH1* negativo es verdadero y no se trata de un falso negativo.

En el caso de que la muestra del paciente tenga características histológicas de bajo grado de malignidad, nos podríamos plantear que fuera un falso negativo, o que se trate de un *IDH2* positivo, pero debido a que no está disponible la prueba de inmunohistoquímica *IDH2* en el hospital no podemos saberlo. Por ello en los casos que existe duda, o en los pacientes menores de 55 años (debido a que la mutación *IDH* es más frecuente en ese rango de edad) se debe realizar un estudio molecular para confirmar ese resultado. En el caso de nuestra muestra, los 18 pacientes que en inmunohistoquímica fueron IDH-wildtype eran descritos como astrocitomas de alto grado, o como astrocitoma grado II con características de gran malignidad en las características histológicas o en las pruebas de imagen.

En los 3 casos en los que el resultado de la prueba fue no valorable, sería necesario completar el estudio con un análisis molecular más amplio para determinar el verdadero estado de la mutación *IDH*. Con todos estos datos se podría completar la reclasificación que he empezado en el estudio del TFG, añadiendo a los pacientes diagnosticados



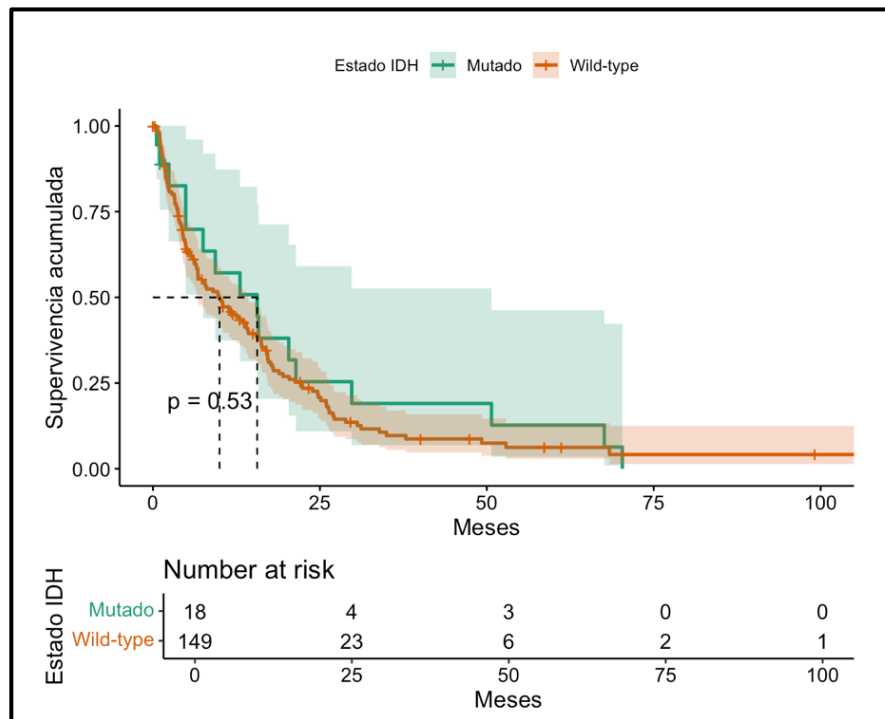
tradicionalmente como astrocitomas grado II/III. Esta reclasificación completada se puede ver en la *Figura 11*.



**Figura 11. Reclasificación completada según OMS 2021, añadiendo los pacientes diagnosticados tradicionalmente como astrocitomas grado II/III.**

Para completar el estudio, se ha analizado las curvas de supervivencia añadiendo los pacientes que fueron diagnosticados como astrocitomas, pero mediante la prueba de inmunohistoquímica se demostró que realmente eran IDH-wildtype (n=18), y por ello según la nueva clasificación se tratarían de glioblastomas. En la *Figura 12* se puede observar que, aunque la mediana de supervivencia sigue siendo mayor en los gliomas IDH1-mutado (15,6 meses) que en los IDH1-Wildtype (9,97 meses), sigue sin llegar a tener diferencias estadísticamente significativas, ya que p es mayor de 0,05 ( $p = 0,53$ ). No se han añadido los astrocitomas IDH-mutante debido a que al no tener la información adicional sobre la delección homocigota *CDKN2A/B*, no podemos determinar el grado de astrocitoma que es, por ello no se pueden incluir dentro del grupo de astrocitomas IDH-

mutante grado 4, ya que puede existir mucha discordancia entre la supervivencia de un astrocitoma grado 2 y uno grado 4, y podría dar un resultado sesgado en la gráfica.



**Figura 12.** Curva de supervivencia de Kaplan-Meier según el estado de la mutación IDH1 añadiendo los pacientes IDH-wildtype que eran considerados astrocitomas. Las curvas comparan la supervivencia entre pacientes IDH-Wildtype y IDH-mutado. Se incluyen intervalos de confianza del 95% y tabla de número de pacientes en riesgo.

Con respecto a los estudios futuros, me parece importante comentar que se va a llevar a cabo en el Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa un estudio de reclasificación completa desde 2010 hasta 2024 de la toda la base de datos de tumores del SNC del hospital. Para ello, no solo se va a realizar la inmunohistoquímica IDH1 como ocurrió en este estudio, sino que se va a realizar la determinación mediante PCR digital de la mutación IDH1, IDH2, la mutación promotora de TERT, y mediante inmunohistoquímica se determinará la delección homocigota CDKN2A/B, y mutaciones en la Histona H3. Con todo eso, se conseguirá realizar una reclasificación mucho más completa, y un estudio profundo de la base de datos del hospital.

*Anexo 13. Informe favorable del CEICA.*



**Dictamen Favorable**

C.I. PI24/588

26 de marzo de 2025

**CEIC Aragón (CEICA)**

Dña. María González Hinjos, Secretaria del CEIm Aragón (CEICA)

**CERTIFICA**

**1º.** Que el CEIC Aragón (CEICA) en su reunión del día 26/03/2025, Acta Nº 06/2025 ha evaluado la **modificación propuesta** del Trabajo:

**Título: Influencia diagnóstica y pronóstica de marcadores genéticos en glioma cerebrales.**

**Estudiante: Laura López García**

**Tutor: Jesús Aguas Valiente**

**Se acepta la exención del consentimiento siempre que se cedan los datos seudonimizados a la estudiante**

**2º.** Esta modificación propone la versión:

**Versión protocolo: (Version 3) 15.3.25**

**3º.** Considera que

- El proyecto se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y los principios éticos aplicables.
- El Tutor/Director garantiza la confidencialidad de la información, la obtención de los permisos necesarios para el acceso a los datos, el adecuado tratamiento de los datos en cumplimiento de la legislación vigente y la correcta utilización de los recursos materiales necesarios para su realización.

**4º.** Por lo que este CEIC emite **DICTAMEN FAVORABLE** a la realización del trabajo.

**5º.** El presente dictamen favorable sólo tendrá **validez hasta la fecha declarada de final del estudio (mayo de 2025)**, la modificación de esta fecha o cualquier otra modificación sustancial de las condiciones y/o metodología respecto de la versión arriba referenciada del protocolo o del documento de información debe presentarse de nuevo a evaluación por el comité.

Lo que firmo en Zaragoza, a fecha de firma electrónica

**GONZALEZ  
HINJOS MARIA -  
DNI 03857456B**

Firmado digitalmente por  
GONZALEZ HINJOS MARIA -  
DNI 03857456B  
Fecha: 2025.03.31 12:13:44  
+02'00'

María González Hinjos

#### *Anexo 14. Glosario de términos estadísticos.*

- Curvas de Kaplan–Meier: Se trata de una representación estadística no paramétrica, que es muy utilizada para estimar la probabilidad de supervivencia a lo largo del tiempo, representando gráficamente el porcentaje de pacientes que sobreviven desde un punto de inicio definido (en este estudio el punto de inicio ha sido la fecha del procedimiento quirúrgico).
- Log-rank test: Es una prueba estadística usada para comparar curvas de Kaplan–Meier entre dos o más grupos, evaluando si hay diferencias significativas.
- Eventos: En los estudios de supervivencia, se refiere al desenlace de interés que se va a estudiar (en este estudio el evento ha sido el fallecimiento), ya que es el punto en el que se registra el tiempo de seguimiento como completo.
- Censura: En este tipo de análisis se refiere a los casos en los que no se observa el evento de interés durante el periodo de seguimiento (ya sea porque el paciente sigue vivo o porque se ha perdido en el seguimiento por otras causas).
- Mediana de supervivencia: Se trata de un valor temporal en el que el 50% de los sujetos ha presentado el evento de interés.
- Valor p (p-value): Es la probabilidad de obtener un resultado igual o más extremo que el observado si la hipótesis nula fuera cierta. En este estudio un valor  $p < 0.05$  se ha considerado como estadísticamente significativo.
- Intervalo de confianza: Se trata del rango dentro del cual se espera que se encuentre el valor verdadero de la estimación. Cuanto más estrecho es el intervalo, mayor precisión tiene la estimación.
- Chi-cuadrado ( $\chi^2$ ): Es una prueba estadística que evalúa si existe asociación entre dos variables categóricas, comparando las frecuencias observadas con las frecuencias esperadas en tablas de contingencia.
- Test exacto de Fisher: Es la alternativa al test de chi-cuadrado cuando el tamaño muestral es pequeño o las frecuencias esperadas en alguna celda son inferiores a 5. Al igual que la prueba de chi-cuadrado, calcula la asociación entre variables categóricas.
- Grados de libertad (gl): Se trata de un parámetro que indica el número de valores independientes en una prueba estadística. En el test de chi-cuadrado, se calcula como  $(\text{número de filas} - 1) \times (\text{número de columnas} - 1)$ .

- Error tipo II ( $\beta$ ): Es el error que ocurre cuando se acepta la hipótesis nula siendo esta falsa, es decir, no se detecta una diferencia real entre los grupos. Este error puede deberse a una baja potencia estadística o a un tamaño muestral insuficiente.
- Potencia estadística: Es la capacidad que tiene una prueba de detectar una diferencia cuando existe realmente. Está influida por el tamaño de la muestra, el tamaño del efecto que se estudia y el nivel de significación; y una baja potencia puede aumentar el riesgo de error tipo II.