

## Detección de la mutación de la enzima isocitrato deshidrogenasa en gliomas difusos grados II, III y IV

### Detection of isocitrate dehydrogenase enzyme mutation in grades II, III and IV diffuse gliomas

Pablo Naranjo-Botero<sup>1</sup>, Leiby Alejandra Medina-Zuluaga<sup>2</sup>, Carlos Mario Muñetón-Peña<sup>3</sup> , Juan Carlos Arango-Viana<sup>4</sup> , Sigifredo Ospina-Ospina<sup>5</sup> 

**Resumen. Introducción.** Los gliomas son las neoplasias malignas primarias más frecuentes del sistema nervioso central, asociadas con una mortalidad y morbilidad elevadas. Las mutaciones en los genes IDH1 e IDH2 de la enzima isocitrato deshidrogenasa (IDH) son clave en la tumorigénesis, y son consideradas un factor pronóstico importante en estas neoplasias. En este estudio se buscó determinar la presencia de mutaciones de los genes IDH1 e IDH2 en pacientes con diagnóstico de glioma difuso en diferentes grados, y su correlación con la supervivencia. **Metodología.** Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo y retrospectivo. La población de estudio fueron pacientes entre los 18 y 45 años con diagnóstico de glioma difuso grado II, III y IV, atendidos en el Hospital San Vicente Fundación de Medellín, entre 2012 y 2017, en quienes se realizó un análisis de mutaciones en los genes IDH1 e IDH2 por secuenciación Sanger y tinción de inmunohistoquímica. **Resultados.** Se incluyeron 14 pacientes con edad promedio de 37 años, 57% de sexo masculino. Glioblastoma fue la neoplasia más frecuente, diagnosticada en el 42,9% de casos. Por inmunohistoquímica, 10 de los 14 (71,4%) pacientes presentaron mutación de la enzima IDH1, en tanto que 1 de los 11 (9%) pacientes en quienes se logró la secuenciación del gen IDH2, mostró mutación. En general, el 78,6% presentó mutaciones de la enzima IDH, con promedio de supervivencia de 48 meses. **Conclusión.** Estos hallazgos sugieren que los gliomas son un grupo heterogéneo de tumores, con gran variabilidad genética que impacta en su pronóstico y comportamiento.

<sup>1</sup> Médico, Especialista en Patología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. E-mail: pablo.naranjob@udea.edu.co.

<sup>2</sup> Médica, Especialista en Patología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

<sup>3</sup> Biólogo, MSc en Genética. Grupo de Genética Médica, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

<sup>4</sup> Médico, Especialista en Patología, PhD en Neuropatología. Profesor del Departamento de Patología, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

<sup>5</sup> Médico, Especialista en Microbiología y Parasitología, Especialista en Epidemiología. Profesor de la Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

Conflicto de interés: los autores declaran que no tienen conflicto de interés.

Medicina & Laboratorio 2021;25:709-719. <https://doi.org/10.36384/01232576.525>.

Recibido el 19 de mayo de 2021; aceptado el 12 de julio de 2021. Editora Médica Colombiana S.A., 2021<sup>®</sup>.

**Palabras clave:** isocitrato deshidrogenasa, mutación, inmunohistoquímica, análisis de secuencia de ADN, glioma, astrocitoma, glioblastoma, oligodendroglioma.

**Abstract. Introduction.** Gliomas are the most common primary malignancies of the central nervous system, associated with high mortality and morbidity. Mutations in the isocitrate dehydrogenase (IDH) enzyme IDH1 and IDH2 genes, are key in tumorigenesis, and are considered an important prognostic factor in these neoplasms. This study aimed to determine the presence of IDH1 and IDH2 gene mutations in patients diagnosed with diffuse glioma in different degrees, and their correlation with survival. **Methodology.** A descriptive, prospective and retrospective study was conducted. The study population consisted of patients between the ages of 18 and 45 with a diagnosis of grade II, III and IV diffuse glioma, treated at the Hospital San Vicente Fundación in Medellín, between 2012 and 2017, in whom an analysis of IDH1 and IDH2 gene mutations was performed by Sanger sequencing and immunohistochemical staining. **Results.** Fourteen patients with a mean age of 37 years were included, 57% were male. Glioblastoma was the most frequent neoplasm, diagnosed in 42.9% of the cases. By immunohistochemistry, 10 of the 14 (71.4%) patients had a mutation of the IDH1 enzyme, while 1 of the 11 (9%) patients in whom IDH2 gene sequencing was achieved showed a mutation. In general, 78.6% had IDH enzyme mutations, with an average survival of 48 months. **Conclusion.** These findings suggest that gliomas are a heterogeneous group of tumors, with great genetic variability that impacts their prognosis and behavior.

**Keywords:** isocitrate dehydrogenase, mutation, immunohistochemistry, DNA sequence analysis, glioma, astrocytoma, glioblastoma, oligodendroglioma.

## Introducción

Los tumores primarios del sistema nervioso central (SNC) malignos y no malignos tienen una incidencia de 23,79 por cada 100.000 habitantes, e incluyen los tumores gliales (gliomas), los cuales son neoplasias frecuentes que representan aproximadamente el 25,1% de todas las neoplasias primarias del SNC, y el 80,8% de las neoplasias malignas a este nivel, según estadísticas del CBTRUS (del inglés, *Central Brain Tumor Registry of the United States*) publicadas en el año 2020 [1]. Para el mismo año, de acuerdo con los datos recopilados por la IARC (del inglés, *International Agency for Research on Cancer*), los tumores del cerebro y del SNC representaron el 1,7% de los diagnósticos *de novo* de

cáncer en Colombia, y fueron responsables de un 3% del total de muertes por cáncer [2]. Estas neoplasias se asocian con una gran mortalidad y morbilidad, dada su localización y su comportamiento biológico. Históricamente, se han clasificado según su morfología, sin embargo, esta clasificación ha tenido una correlación pobre con el pronóstico, el comportamiento y la respuesta al tratamiento clásico de la neoplasia, y tiene una baja reproducibilidad interobservador [3,4].

Gracias a la aplicación de técnicas de biología molecular, se han identificado mutaciones conductoras (es decir, aquellas que inician y guían el proceso de tumorigénesis), como las alteraciones de los genes que codifican la enzi-

ma isocitrato deshidrogenasa (IDH). La mutación de la IDH se observó por primera vez en tumores del SNC en el año 2008, cuando Parsons y colaboradores realizaron un mapeo genético de 22 glioblastomas, y se encontró esta mutación en un subconjunto de pacientes jóvenes (menores de 55 años), con mejor sobrevida [5]. Estas mutaciones modifican la biología y el comportamiento de los gliomas, y son actualmente consideradas uno de los principales factores pronósticos en estas neoplasias [6]. Dichas mutaciones se han encontrado en aproximadamente el 70% de los gliomas difusos, clasificados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en grados II (astrocitoma y oligodendroglioma difusos), III (astrocitoma y oligodendroglioma anaplásicos), y IV (glioblastomas), y representan un factor pronóstico favorable en cuanto a la sobrevida general y respuesta al tratamiento, comparado con las variantes no mutadas [4,7]. Esto llevó a que en la nueva clasificación propuesta por la OMS en el año 2016, se integrara el estado de la IDH dentro de la clasificación de los gliomas, separándolos en gliomas con IDH mutada y no mutada (WT, del inglés, *Wild Type*) como entidades diferentes, cada una con comportamiento y pronóstico particular [3].

La IDH es una enzima codificada por los genes *IDH1* e *IDH2*, ubicados en las regiones cromosómicas 2q33.3 y 15q26.1, respectivamente, la cual cataliza la carboxilación del isocitrato a alfa-cetoglutarato ( $\alpha$ -KG), reduciendo NADP<sup>+</sup> a NADPH durante el proceso [8]. La mutación de la cadena de aminoácidos en el sitio 132 en *IDH1* y 172 en *IDH2*, lleva al debilitamiento de su unión al isocitrato y a una ganancia de función, teniendo como nuevo producto el D-2-hidroxi-glutarato (D-2HG), sintetizado a expensas de NADPH, el cual inhibe de forma competitiva las dioxi-

genasas e hidroxilasas dependientes del  $\alpha$ -cetoglutarato [7,9,10]; esto lleva a hipermetilación de islas CG, desregulación de HIF-1 $\alpha$  y a un aumento del estrés oxidativo de la célula [7]. La mutación de la IDH no es exclusiva de gliomas, y se ha visto relacionada con algunas neoplasias de estirpe hematolinfoide [11,12] y tumores sólidos como colangiocarcinomas, melanomas y condrosarcomas [13,14].

En Colombia, en el año 2016, un estudio realizado en la ciudad de Bogotá por el grupo de Patología Molecular de la Universidad Nacional de Colombia, evaluó 26 pacientes con gliomas difusos, encontrando mutaciones en *IDH1* o *IDH2* en el 57,1% de todos los pacientes evaluados, al igual que en el 100% de los oligodendrogliomas, pero solo en el 36,1% de los astrocitomas [15]. En Antioquia, el estado de la IDH de los gliomas no ha sido estudiado, ya que su evaluación es poco asequible en el medio, lo que limita las posibilidades de llegar a un diagnóstico completo. El propósito de este estudio fue determinar la presencia de las mutaciones en *IDH1* y 2 en pacientes adultos entre 18 y 45 años, con gliomas difusos grados II, III o IV, y determinar su correlación con la sobrevida.

## Metodología

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo y prospectivo. La población de estudio estuvo conformada por todos los pacientes entre 18 y 45 años de edad, con diagnóstico de glioma difuso grados II, III o IV, cuyas muestras hubieran sido procesadas en el Laboratorio de Patología de la Universidad de Antioquia, entre los años 2012 y 2017, además, se evaluó la sobrevida de los pacientes a 2020. En estos se realizó la detección de las mutaciones de la IDH

por secuenciación tipo Sanger y tinción de inmunohistoquímica (IHQ), a partir de muestras de tejido fijado en formol y embebidas en un bloque de parafina. Fueron excluidos aquellos pacientes con datos clínicos incompletos y aquellos que no pudieron ser contactados.

Las variables consideradas dentro del estudio fueron la edad al diagnóstico, sexo del paciente, diagnóstico morfológico realizado con hematoxilina-eosina, tiempo de supervivencia luego del diagnóstico y el estado de los genes *IDH1* e *IDH2*. Para el estudio del estado de la IDH, fueron realizadas coloraciones de inmunohistoquímica para la mutación R132H del gen *IDH1*, utilizando el clon H09 para *IDH1*-R132H, y se hizo secuenciación genética tipo Sanger para ambos genes, *IDH1* e *IDH2*. Para determinar la positividad de la tinción de inmunohistoquímica, se usó como punto de corte la tinción citoplasmática en más del 10% de las células tumorales [16,17]. El análisis genético se realizó en regiones específicas de los genes *IDH1* e *IDH2*, amplificados con *primers* específicos por PCR. Los amplicones se corrieron por electroforesis en geles de agarosa teñidos con *redgel*, luego se purificaron y con los mismos *primers* se realizó la secuenciación por ambas cadenas, utilizando el kit BigDye™ Terminator v3.1 (Applied Biosystems, USA) en un analizador genético ABI 3500, en el laboratorio del grupo de Genética Médica-LIME de la Universidad de Antioquia. Las secuencias obtenidas se editaron para el análisis y se compararon con las referencias publicadas en el GenBank para ambos genes.

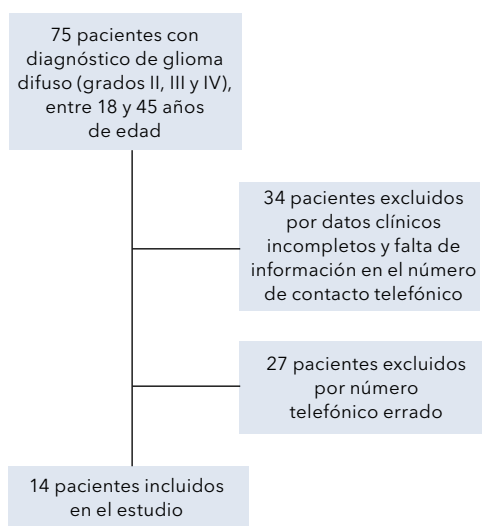
Para el análisis de las variables cuantitativas se utilizaron medidas de tendencia central como la media con su desviación estándar, según la distribución de los datos por Shapiro-Wilk. Para las

variables cualitativas se utilizaron distribuciones de frecuencias absolutas y relativas de cada una de las categorías.

Esta investigación fue evaluada y avalada por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia y por el Comité de Ética del Hospital Universitario San Vicente Fundación. Se garantizó la confidencialidad de la información de identificación de los pacientes en todas las etapas del estudio.

## Resultados

Se identificaron 75 pacientes como elegibles, en la base de datos del Departamento de Patología con diagnóstico de glioma difuso, grados II, III y IV que cumplieran con los criterios de inclusión. De estos, solo 14 pacientes o familiares lograron ser contactados, y después de aplicado el consentimiento verbal vía telefónica, todos aceptaron hacer parte del estudio (**figura 1**).



**Figura 1.** Diagrama de flujo del proceso de selección de la muestra.

La edad promedio de los pacientes fue de 37 años (DE=6,5), con un mínimo de 24 y un máximo de 45 años. El 57% (8/14) fueron del sexo masculino. En la **tabla 1** se describen las características de los pacientes incluidos en el estudio.

Histológicamente, el diagnóstico más frecuente en la población estudiada fue el glioblastoma en 6 de los pacientes (43%) (**tabla 2**).

La tinción de IHQ permitió identificar la presencia de la mutación del gen

*IDH1* en 10 de los pacientes (71,4%). Se logró la amplificación de material genético por medio de PCR en las muestras de 11 pacientes (78,6%), los 3 pacientes restantes que no amplificaron (21%) tenían el ADN degradado. En la secuenciación de *IDH1*, dado el tamaño y complejidad del gen, se lograron obtener las secuencias completas de 3 pacientes (21%), las cuales no presentaron mutaciones. En la secuenciación del gen *IDH2*, se obtuvo la secuencia completa de los 11 pacientes (78,6%), de los cuales 1 (9%) presentó mutación patológica.

**Tabla 1.** Características de los pacientes con glioma difuso, grados II, III y IV

Caso	Edad en años	Sexo	Diagnóstico histológico	Sobrevida en meses	IDH1 (IHQ)	IDH1 Genética	IDH2 Genética
1	33	M	Glioblastoma	36	Positivo	WT	WT
2	31	M	Astrocitoma difuso	31	Positivo	SD	WT
3	34	F	Oligoastrocitoma anaplásico	102	Positivo	SD	WT
4	40	F	Astrocitoma anaplásico	7	Positivo	SD	WT
5	39	F	Astrocitoma difuso	94	Positivo	SD	WT
6	44	F	Glioblastoma	70	Negativo	WT	WT
7	24	F	Glioblastoma	13	Positivo	SD	WT
8	41	M	Astrocitoma anaplásico	78	Positivo	SD	WT
9	41	M	Glioblastoma	73	Positivo	SD	SD
10	26	M	Glioblastoma	5	Positivo	SD	WT
11	43	M	Oligoastrocitoma anaplásico	1	Negativo	WT	WT
12	39	M	Glioblastoma	20	Negativo	SD	SD
13	39	F	Oligodendroglioma anaplásico	48	Positivo	SD	SD
14	45	M	Oligoastrocitoma anaplásico	38	Negativo	SD	Mutada

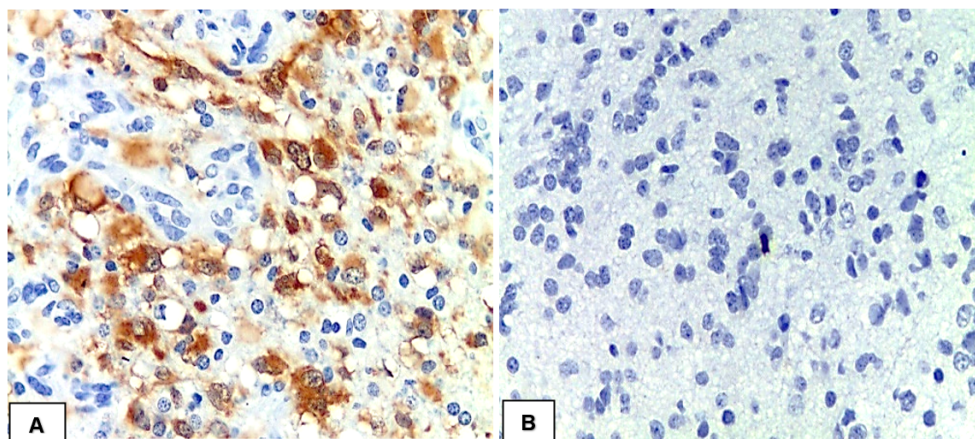
IHQ: inmunohistoquímica; SD: sin dato por degradación del ADN de la muestra; WT: *wild type*.

**Tabla 2.** Distribución de los pacientes con glioma difuso, grados II, III y IV, según el diagnóstico histológico

Tipo de glioma y grado histológico	Número de pacientes	Porcentaje
Glioblastoma (IV)	6	42,9%
Oligoastrocitoma anaplásico (III)	3	21,4%
Astrocitoma anaplásico (III)	2	14,3%
Astrocitoma difuso (II)	2	14,3%
Oligodendroglioma anaplásico (III)	1	7,1%
<b>Total</b>	14	100%

Uno de los 10 pacientes con alteración de IDH1 en la prueba de IHQ, tuvo una secuenciación normal para ambas cadenas (**figura 2**). De los 4 pacientes en quienes la IHQ fue negativa para la IDH1 mutada, 1 presentó mutación del gen *IDH2* por secuenciación, dos presentaron cadenas *IDH1* e *IDH2* no patológicas, y el cuarto caso tuvo ADN degradado, por lo que no fue posible realizar la secuenciación de ninguno de los dos genes.

El promedio de supervivencia de todos los pacientes fue de 44 meses (DE=34), con un mínimo de 1 mes y un máximo de 102 meses. En el grupo de pacientes con mutación en *IDH1* o *IDH2*, el promedio de supervivencia fue de 48 meses, con un mínimo de 5 meses y un máximo de 102 meses. De los 14 pacientes incluidos, 6 (43%) se encontraban con vida a diciembre de 2020, todos ellos con mutación patológica en *IDH1* o *IDH2*.



**Figura 2.** Inmunohistoquímica R132H de la enzima isocitrato deshidrogenasa 1 (IDH1) (400x). (A) Tinción positiva citoplasmática para IDH1 mutada en más del 10% de las células tumorales, con secuenciaciones normales de ambos genes. (B) Tinción negativa para IDH1 mutada en un caso de oligoastrocitoma anaplásico, con mutación del gen *IDH2* en el análisis de secuenciación.



De los 4 pacientes en los que no se evidenció mutación de la IDH1 por IHQ, dos de ellos con secuenciación normal tuvieron un rango de sobrevida muy variable; uno de ellos con diagnóstico histológico de oligoastrocitoma anaplásico tuvo sobrevida de 1 mes, y un segundo caso con diagnóstico de glioblastoma tuvo sobrevida de 70 meses. El tercer caso con IHQ IDH1 negativa, al cual no se le pudo confirmar la ausencia de mutación por secuenciación genética debido a la degradación del ADN, tuvo diagnóstico de glioblastoma y una sobrevida de 20 meses. El cuarto paciente sin mutación de la IDH1 por IHQ, pero con mutación del gen *IDH2* en la secuenciación, tuvo una sobrevida de 38 meses.

## Discusión

En nuestro estudio, la mayoría de pacientes fueron de sexo masculino, con una relación hombre-mujer de 1,33:1; este resultado concuerda con los valores reportados por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) de la OMS en el año 2020, la cual estimó que el 55% de las neoplasias malignas primarias del SNC diagnosticadas en todo el mundo afectaron principalmente al sexo masculino (162.534 hombres de 296.851 individuos) [1]. Otras series han mostrado también que los gliomas son más frecuentes en el género masculino, con una relación hombre-mujer que varía entre 1,1-1,6:1, tanto a nivel mundial como en Latinoamérica [8,18,19].

El diagnóstico histológico más frecuente fue el glioblastoma, el cual representó un 43% de todos los casos. Estos resultados están acordes a lo reportado en las estadísticas del CBTRUS (del inglés, *Central Brain Tumor Registry of the United States*) publicadas en el año

2020, en las que el glioblastoma fue la neoplasia de origen glial más frecuente, representando el 58% de todas las neoplasias gliales [1].

En nuestro estudio, 10 de 14 pacientes (71,4%) mostraron alteración patológica de IDH1 por IHQ; hallazgos que concuerdan con lo reportado por varios autores a nivel mundial, quienes observaron estas mutaciones en aproximadamente el 74% de los casos, principalmente en gliomas de bajo grado y glioblastomas secundarios, predominando la mutación de IDH1 en el 70,8% de casos [8,17,20]. Sin embargo, la prevalencia de la mutación en nuestro estudio ha sido mayor a la reportada en Colombia por Neita y colaboradores, quienes encontraron la presencia de IDH mutada en el 42,3% de sus pacientes.

Una menor proporción de tumores involucra mutaciones en el gen *IDH2* (R172) [8,21]. En este estudio, se identificó una prevalencia de la mutación de IDH2 en el 9% de los pacientes; frecuencia que se aproxima a la reportada a nivel mundial y regional, las cuales varían entre el 2% y 7% [8,15,21].

La IHQ utiliza anticuerpos específicos contra una proteína de la IDH1 alterada, resultado de la mutación R132H en la que es remplazada una arginina por histidina en el exón 4, codón 132 del gen *IDH1*, la cual es la mutación más frecuentemente encontrada, presente hasta en el 90% de los casos de neoplasias gliales con IDH mutante [16,17,21]. Otras mutaciones raras son la R132C, R132S, R132G, R132L, R132V y la R132P [21]. En nuestro estudio, el 91,6% de los casos con IDH mutada, presentaron expresión de la mutación R132H en inmunohistoquímica, lo cual se encuentra acorde con lo reportado en la literatura.

De los 14 pacientes incluidos en el estudio, en 3 casos fue imposible la amplificación y secuenciación del ADN por fragmentación y degradación del material genético. Este problema es frecuente en estudios moleculares en muestras procedentes de tejido embebido en parafina, y viene ligado al método de fijación y procesamiento del tejido. El uso de formol para la fijación del tejido está asociado a pérdida de la integridad del ADN, al causar uniones ADN-ADN y ADN-proteínas, transición C-T de nucleótidos y fragmentación, metilación y alcalinización del ADN, siendo estos cambios más severos con tiempos de fijación más largos; y aunque secuencias cortas obtenidas de estas muestras pueden ser usadas para evaluar genes pequeños de forma dirigida, estudios en genes de mayor tamaño o a mayor escala son inviables en estos especímenes [22,23]. Para mitigar este efecto, los estudios han mostrado un menor impacto cuando se utiliza un formol tamponado neutro a una concentración del 10% [23]. Otros factores preanalíticos a tener en cuenta son el tiempo de almacenamiento y el método de desparafinación y extracción del ADN [22].

En nuestro estudio, uno de los 14 pacientes presentó reactividad para IDH1 mutada por IHQ y secuenciación de ADN negativa para ambos genes, lo que reflejó una discordancia del 7%. Agarwal y colaboradores, en un estudio de 50 pacientes con diferentes tipos y grados de gliomas, compararon la alteración de la IDH estudiada por IHQ y secuenciación de ADN, encontrando discordancia en el 12% (6/50) de los casos. En ese reporte, los 6 casos fueron positivos en IHQ, pero en la secuenciación, 3 de ellos presentaron cadenas normales, y los otros 3 presentaron la mutación R132L [21]. Estas diferencias entre la IHQ y la secuenciación genética han sido explicadas

en la literatura por una cantidad insuficiente de ADN, lo cual es resultado de muestras pequeñas (por ejemplo, de biopsias), necrosis extensa asociada al tumor, heterogeneidad intratumoral y presencia de tejido nervioso no tumoral; con la consecuente imposibilidad para demostrar la mutación, dando como resultado falsos negativos [17,21]. La discordancia descrita también podría explicarse por falsos positivos en inmunohistoquímica, que aunque infrecuentes, se han visto ligados a una falla en el pretratamiento del tejido, una concentración inadecuada de anticuerpos o al uso de peroxidasa derivada de rábano durante el procesamiento [24].

Yan y colaboradores, al secuenciar los genes *IDH1* e *IDH2* en una serie de 455 tumores del SNC, encontraron una mejoría significativa de la supervivencia para los pacientes con mutación de la IDH, tanto en astrocitomas, oligodendrogliomas y glioblastomas, con incremento entre 16 a 45 meses, dependiendo del grado histológico [6]. Hallazgos similares fueron descritos por Olar y colaboradores, quienes concluyeron en otra serie de 558 casos de gliomas grados II y III, que la presencia de la mutación de la IDH en gliomas conllevaba una mejoría significativa de la supervivencia respecto a la variante no mutada (*wild type*), con un RR de 0,38 (95%IC=0,28-0,52) [25]. En nuestro estudio, los pacientes con IDH mutada presentaron un promedio de supervivencia de 48 meses. Sin embargo, para validar nuestros resultados y corroborar los datos informados en la literatura, se recomiendan estudios futuros con un mayor tamaño de la muestra.

La supervivencia en pacientes con IDH no mutada fue heterogénea. El paciente con diagnóstico de oligoastrocitoma anaplásico, tuvo una supervivencia de 1



mes luego del diagnóstico, acorde con el comportamiento biológico descrito en la literatura para estos casos [6,20], mientras que el paciente con diagnóstico de glioblastoma presentó una sobrevida de 70 meses, valor sobre la media de sobrevida para este tipo de pacientes [6]. Son muchos los factores que se encuentran reportados en la literatura que impactan directamente la sobrevida de los pacientes con gliomas, dentro de los cuales un puntaje elevado en la escala de Karnofsky, resección quirúrgica completa, mayor cantidad de linfocitos T infiltrantes de tumor, y sexo femenino, han sido ligados a un buen pronóstico [18,26,27]. Estudios moleculares han mostrado otras alteraciones genéticas y epigenéticas con impacto pronóstico positivo en los pacientes con glioblastomas, dentro de los cuales se encuentran la hipermetilación del promotor del gen *MGMT*, mayor inestabilidad microsatelital, alteración del número de copias en más del 75% del genoma tumoral y alteración del metabolismo de la esfingomielina [28-30]. Por otro lado, mutaciones del promotor del gen de la transcriptasa inversa de la telomerasa (*pTERT*), la ganancia del cromosoma 7 combinada con pérdida del cromosoma 10, y la amplificación del gen del receptor del factor de crecimiento epidérmico (*EGFR*) han sido relacionadas con un impacto negativo en la sobrevida de estos pacientes [31].

Las inferencias que se han podido realizar en este estudio han sido limitadas por varios factores, tales como la selección de pacientes solo dentro de un rango de edad estrecho, la dificultad para localizar los pacientes, lo que llevó a un tamaño pequeño de muestra, el uso de formol para la conservación y fijación del tejido, sumado al uso de parafina durante el procesamiento, lo que puede afectar negativamente la calidad y cantidad del ADN obtenido, y es

considerado el principal obstáculo para el éxito de las pruebas moleculares en estos tejidos; además de las dificultades logísticas relacionadas con la pandemia por COVID-19, que limitaron los procesos técnicos. Para estudios futuros se recomienda estandarizar el proceso preanalítico, incluyendo medidas para mitigar el daño del ADN, limitando el tiempo de fijación y el tamponamiento de la formalina.

Se puede concluir a partir de los resultados de este estudio que los gliomas difusos grado II, III, y IV predominan en el sexo masculino, y de ellos el más frecuente es el glioblastoma. La sobrevida de los pacientes con IDH mutada, en este rango etario de 24 a 45 años, presentó un promedio de 48 meses. Estos hallazgos sugieren que los gliomas son un grupo variado de tumores, con gran heterogeneidad genética, la cual impacta en su comportamiento. La detección de mutaciones en IDH1 e IDH2 en los tumores gliales puede contribuir a orientar el pronóstico de los pacientes; sin embargo, es necesario realizar estudios con una muestra de mayor tamaño, y de rango etario más amplio, para confirmar estos resultados.

Este estudio es el primero que se realiza en la región y uno de los pocos en el país, por lo que los resultados obtenidos son importantes para conocer la frecuencia de la expresión de la proteína mutada y las variantes en los genes *IDH1* e *IDH2*, para lograr una mejor comprensión de las características histopatológicas y genéticas de los gliomas en nuestra población.

## Agradecimientos

Agradecemos al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia y al grupo

de Genética Médica-LIME de la Universidad de Antioquia por acompañarnos y apoyarnos con el financiamiento para la realización de esta investigación.

## Referencias

- Ostrom QT, Patil N, Cioffi G, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS.** CBTRUS statistical report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2013-2017. *Neuro Oncol* 2020;22:1-96. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noaa200>.
- International Agency for Research on Cancer.** Colombia fact sheet. Source: GLOBOCAN 2020. Lyon, France: IARC; 2020. Acceso 15 de abril de 2021. Disponible en <https://gco.iarc.fr/today/data/factsheets/populations/170-colombia-fact-sheets.pdf>.
- Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Ellison DW, Figarella-branger D, et al.** WHO classification of tumours of the central nervous system. Ginebra, Suiza: International Agency for Research on Cancer; 2016. 4th.
- Kemel AG, George EB, Valentina E, Jan-neth G, Rosa HB, Magdy S, et al.** Gliomas: New perspectives in diagnosis, treatment and prognosis. *Curr Top Med Chem* 2017;17:1438-1447. <https://doi.org/10.2174/156802661766170103162639>.
- Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, et al.** An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008;321:1807-1812. <https://doi.org/10.1126/science.1164382>.
- Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al.** IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med* 2009;360:765-773. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808710>.
- Ichimura K.** Molecular pathogenesis of IDH mutations in gliomas. *Brain Tumor Pathol* 2012;29:131-139. <https://doi.org/10.1007/s10014-012-0090-4>.
- Hartmann C, Meyer J, Balss J, Capper D, Mueller W, Christians A, et al.** Type and frequency of IDH1 and IDH2 mutations are related to astrocytic and oligodendroglial differentia-tion and age: a study of 1,010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol* 2009;118:469-474. <https://doi.org/10.1007/s00401-009-0561-9>.
- Lee SC.** Diffuse gliomas for nonneuropathologists: The new integrated molecular diagnostics. *Arch Pathol Lab Med* 2018;142:804-814. <https://doi.org/10.5858/arpa.2017-0449-RA>.
- Reiter-Brennan C, Semmler L, Klein A.** The effects of 2-hydroxyglutarate on the tumorigenesis of gliomas. *Contemp Oncol (Pozn)* 2018;22:215-222. <https://doi.org/10.5114/wo.2018.82642>.
- Han CH, Batchelor TT.** Isocitrate dehydrogenase mutation as a therapeutic target in gliomas. *Chin Clin Oncol* 2017;6:33. <https://doi.org/10.21037/cco.2017.06.11>.
- Figuerola ME, Abdel-Wahab O, Lu C, Ward PS, Patel J, Shih A, et al.** Leukemic IDH1 and IDH2 mutations result in a hypermethylation phenotype, disrupt TET2 function, and impair hematopoietic differentiation. *Cancer Cell* 2010;18:553-567. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.11.015>.
- Waitkus MS, Diplas BH, Yan H.** Isocitrate dehydrogenase mutations in gliomas. *Neuro Oncol* 2016;18:16-26. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov136>.
- Aoki K, Natsume A.** Overview of DNA methylation in adult diffuse gliomas. *Brain Tumor Pathol* 2019;36:84-91. <https://doi.org/10.1007/s10014-019-00339-w>.
- Ricaurte O, Neita K, Valero D, Ortega-Rojas J, Arboleda-Bustos CE, Zubieta C, et al.** Estudio de mutaciones en los genes *IDH1* e *IDH2* en una muestra de gliomas de población colombiana. *Biomédica* 2018;38:86-92. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i0.3708>.
- Gondim DD, Gener MA, Curless KL, Cohen-Gadol AA, Hattab EM, Cheng L.** Determining IDH-mutational status in gliomas using IDH1-R132H antibody and polymerase chain reaction. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2019;27:722-725. <https://doi.org/10.1097/pai.0000000000000702>.
- Li J, Zhang H, Wang L, Yang C, Lai H, Zhang W, et al.** Comparative study of IDH1 mutations in gliomas by high resolution melting analysis, immunohistochemistry and direct DNA sequencing. *Mol Med Rep* 2015;12:4376-4381. <https://doi.org/10.3892/mmr.2015.3987>.

18. **Yang W, Warrington NM, Taylor SJ, Whitmire P, Carrasco E, Singleton KW, et al.** Sex differences in GBM revealed by analysis of patient imaging, transcriptome, and survival data. *Sci Transl Med* 2019;11:eaa05253. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aao5253>.
19. **Gómez-Vega JC, Ocampo-Navia MI, Feo-Lee O.** Epidemiología y caracterización general de los tumores cerebrales primarios en el adulto. *Univ Med* 2019;60:47-60.
20. **Kaminska B, Czapski B, Guzik R, Król SK, Gielniewski B.** Consequences of IDH1/2 mutations in gliomas and an assessment of inhibitors targeting mutated IDH proteins. *Molecules* 2019;24. <https://doi.org/10.3390/molecules24050968>.
21. **Agarwal S, Sharma MC, Jha P, Pathak P, Suri V, Sarkar C, et al.** Comparative study of IDH1 mutations in gliomas by immunohistochemistry and DNA sequencing. *Neuro Oncol* 2013;15:718-726. <https://doi.org/10.1093/neuonc/not015>.
22. **Bustamante JA, Astudillo M, Pazos AJ, Bravo LE.** Evaluación de dos métodos de extracción de adn a partir de biopsias fijadas en formalina y embebidas en parafina en condiciones no óptimas. *Acta Biol Colomb* 2011;16:83-98.
23. **Amemiya K, Hirotsu Y, Oyama T, Omata M.** Relationship between formalin reagent and success rate of targeted sequencing analysis using formalin fixed paraffin embedded tissues. *Clin Chim Acta* 2019;488:129-134. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2018.11.002>.
24. **Nuovo G.** False-positive results in diagnostic immunohistochemistry are related to horseradish peroxidase conjugates in commercially available assays. *Ann Diagn Pathol* 2016;25:54-59. <https://doi.org/10.1016/j.ann-diagnpath.2016.09.010>.
25. **Olar A, Wani KM, Alfaro-Munoz KD, Heathcock LE, van Thuijl HF, Gilbert MR, et al.** IDH mutation status and role of WHO grade and mitotic index in overall survival in grade II-III diffuse gliomas. *Acta Neuropathol* 2015;129:585-596. <https://doi.org/10.1007/s00401-015-1398-z>.
26. **Scott JN, Rewcastle NB, Brasher PM, Fulton D, MacKinnon JA, Hamilton M, et al.** Which glioblastoma multiforme patient will become a long-term survivor? A population-based study. *Ann Neurol* 1999;46:183-188.
27. **Donson AM, Birks DK, Schittone SA, Kleinschmidt-DeMasters BK, Sun DY, Hemenway MF, et al.** Increased immune gene expression and immune cell infiltration in high-grade astrocytoma distinguish long-term from short-term survivors. *J Immunol* 2012;189:1920-1927. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103373>.
28. **Gerber NK, Goenka A, Turcan S, Reyngold M, Makarov V, Kannan K, et al.** Transcriptional diversity of long-term glioblastoma survivors. *Neuro Oncol* 2014;16:1186-1195. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou043>.
29. **Peng S, Dhruv H, Armstrong B, Sahlia B, Legendre C, Kiefer J, et al.** Integrated genomic analysis of survival outliers in glioblastoma. *Neuro Oncol* 2017;19:833-844. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now269>.
30. **Burgenske DM, Yang J, Decker PA, Kollmeier TM, Kosel ML, Mladek AC, et al.** Molecular profiling of long-term IDH-wildtype glioblastoma survivors. *Neuro Oncol* 2019;21:1458-1469. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz129>.
31. **Sonoda Y.** Clinical impact of revisions to the WHO classification of diffuse gliomas and associated future problems. *Int J Clin Oncol* 2020;25:1004-1009. <https://doi.org/10.1007/s10147-020-01628-7>.