

SIMPOSIO: FARMACOGENÓMICA Y MEDICINA DE PRECISIÓN

Biomarcadores moleculares en gliomas y su importancia en la farmacogenómica.

Germán R. Perez, PhD
Gammalab. Grupo Gamma.
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas
(UNR)



Facultad de Ciencias
Bioquímicas y
Farmacéuticas



GRUPO GAMMA
RED INTEGRADA DE SALUD



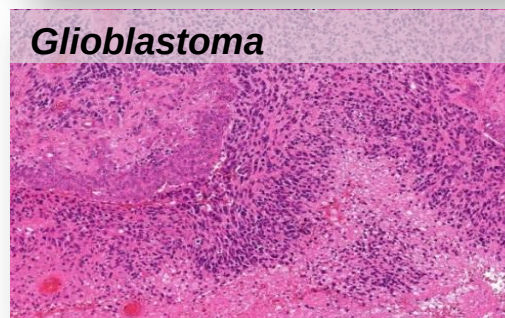
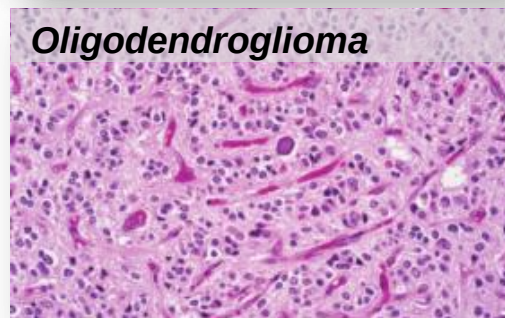
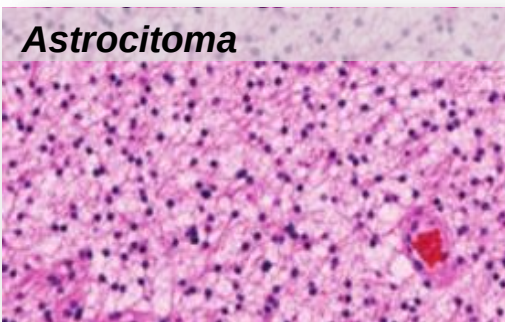
GAMMALAB
ALTA COMPLEJIDAD ANALÍTICA

- Los **gliomas** son los tumores primarios del Sistema Nervioso Central más frecuentes en adultos (55 a 84 años).

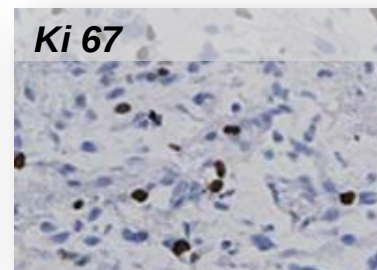
Tabla I: Distribución absoluta y relativa de casos incidentes de cáncer estimados por la IARC para Argentina en 2018 según localizaciones tumorales más frecuentes y sexo.

SITIO TUMORAL	AMBOS SEXOS		VARONES		MUJERES	
	Casos	%	Casos	%	Casos	%
Mama	21558	17,2	-	-	21538	32,6
Colon-recto	15692	12,6	8527	14,5	7165	10,8
Próstata	11600	9,3	11600	19,7	-	-
Pulmón	11595	9,3	7111	12,1	4484	6,8
Riñon	4889	3,9	3165	5,4	1724	2,6
Páncreas	4878	3,9	2302	3,9	2576	3,9
Cervix	4484	3,6	-	-	4484	6,8
Estómago	3980	3,2	2536	4,3	1444	2,2
Vejiga	3631	2,9	2789	4,7	842	1,3
Tiroides	3482	2,8	467	0,8	3015	4,6
Linfoma No-Hodgkin	3405	2,7	1938	3,3	1467	2,2
Encéfalo y otros SNC	3001	2,4	1587	2,7	1414	2,1
Leucemias	2934	2,3	1569	2,7	1365	2,1
Cuerpo de útero	2412	1,9	-	-	2412	3,6
Higado	2343	1,9	1364	2,3	979	1,5
Ovario	2330	1,9	-	-	2330	3,5
Esófago	2299	1,8	1505	2,6	794	1,2
Otros	12224	9,8	8103	13,8	4121	6,2
Total	125014	100,0	58883	100,0	66131	100,0

Estirpe



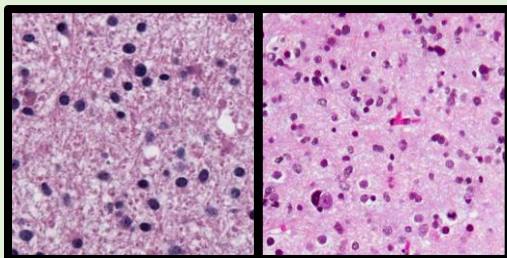
Grado



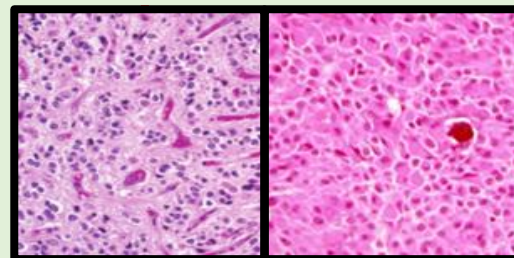
Grado I	Lesión con bajo potencial proliferativo, crecimiento expansivo, posibilidad de cura luego de la resección quirúrgica.
Grado II	Lesión con bajo potencial proliferativo, crecimiento infiltrativo y tendencia a la recurrencia. Progresión a lesión de mayor grado.
Grado III	Lesión con evidencia histológica de malignidad, mitosis, anaplasia y capacidad infiltrativa.
Grado IV	Lesión maligna, mitóticamente activa, tendencia a la necrosis y evolución rápida.

*Estudio
histológico*

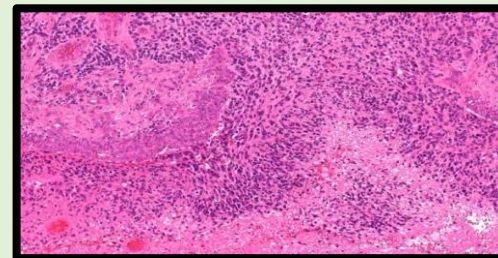
Estirpe



Astrocitoma



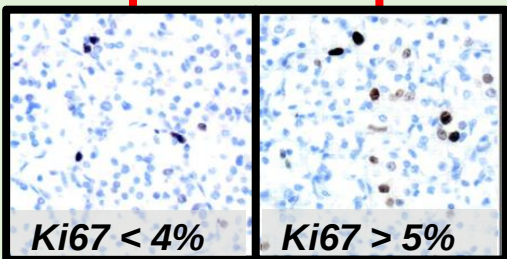
Oligodendroglioma



Glioblastoma

*Estudio
inmunohistoquímico*

Grado



Grado II

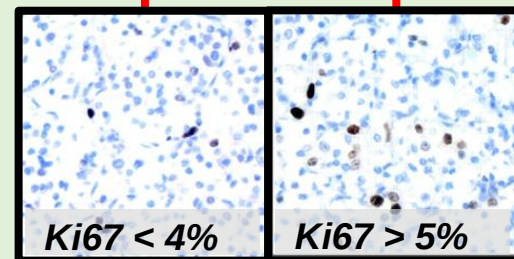
Grado III

**Astrocitoma
difuso**

8%

**Astrocitoma
anaplásico**

25%



Grado II

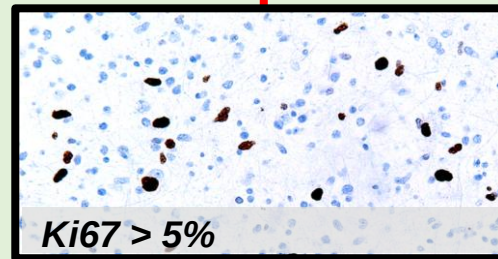
Grado III

Oligodendroglioma

7%

**Oligodendroglioma
anaplásico**

2%



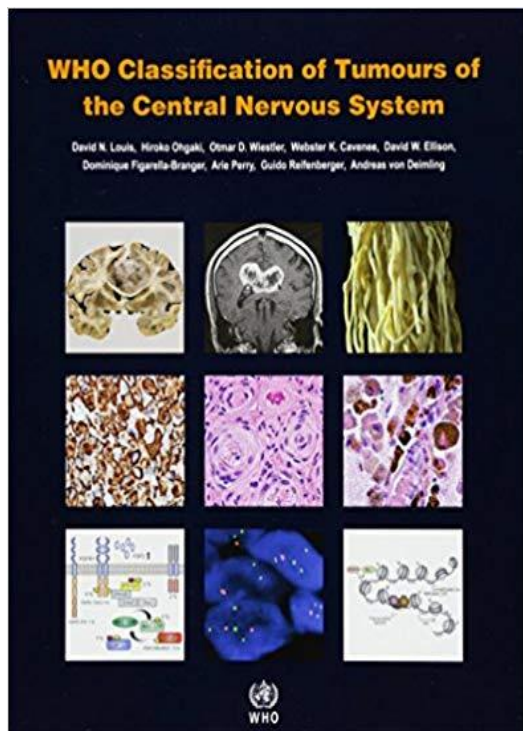
Ki67 > 5%

Grado IV

Glioblastoma

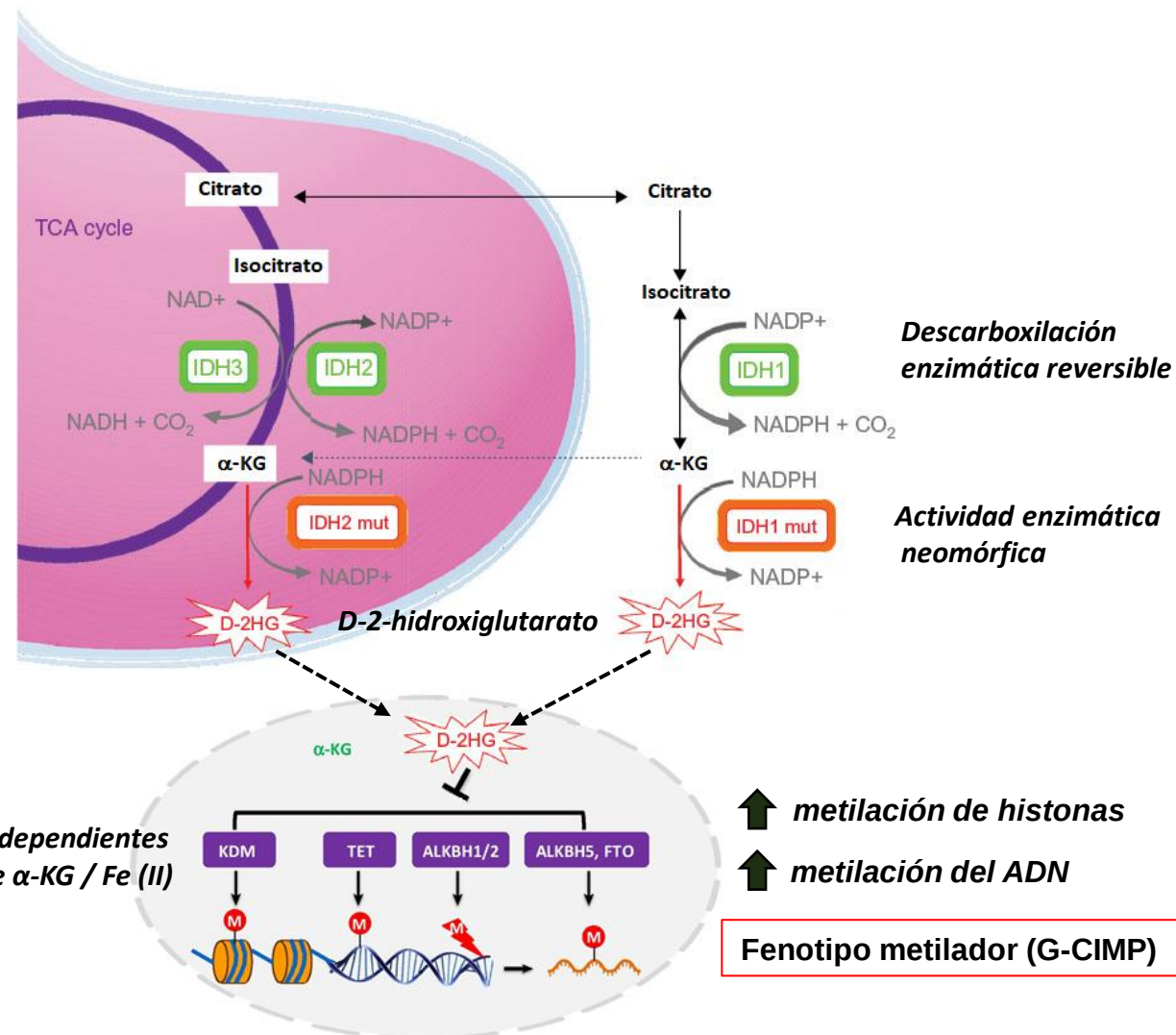
48%

2016

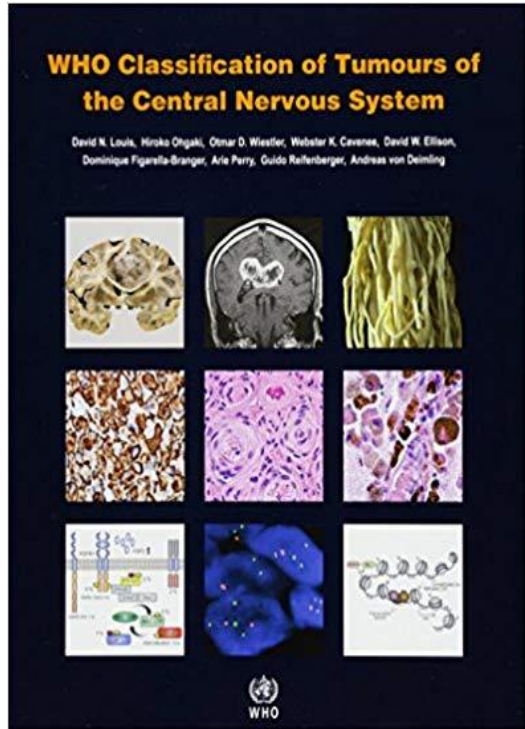


1. Detección de variantes en genes IDH-1 (codón 132) y IDH-2 (codón 172)

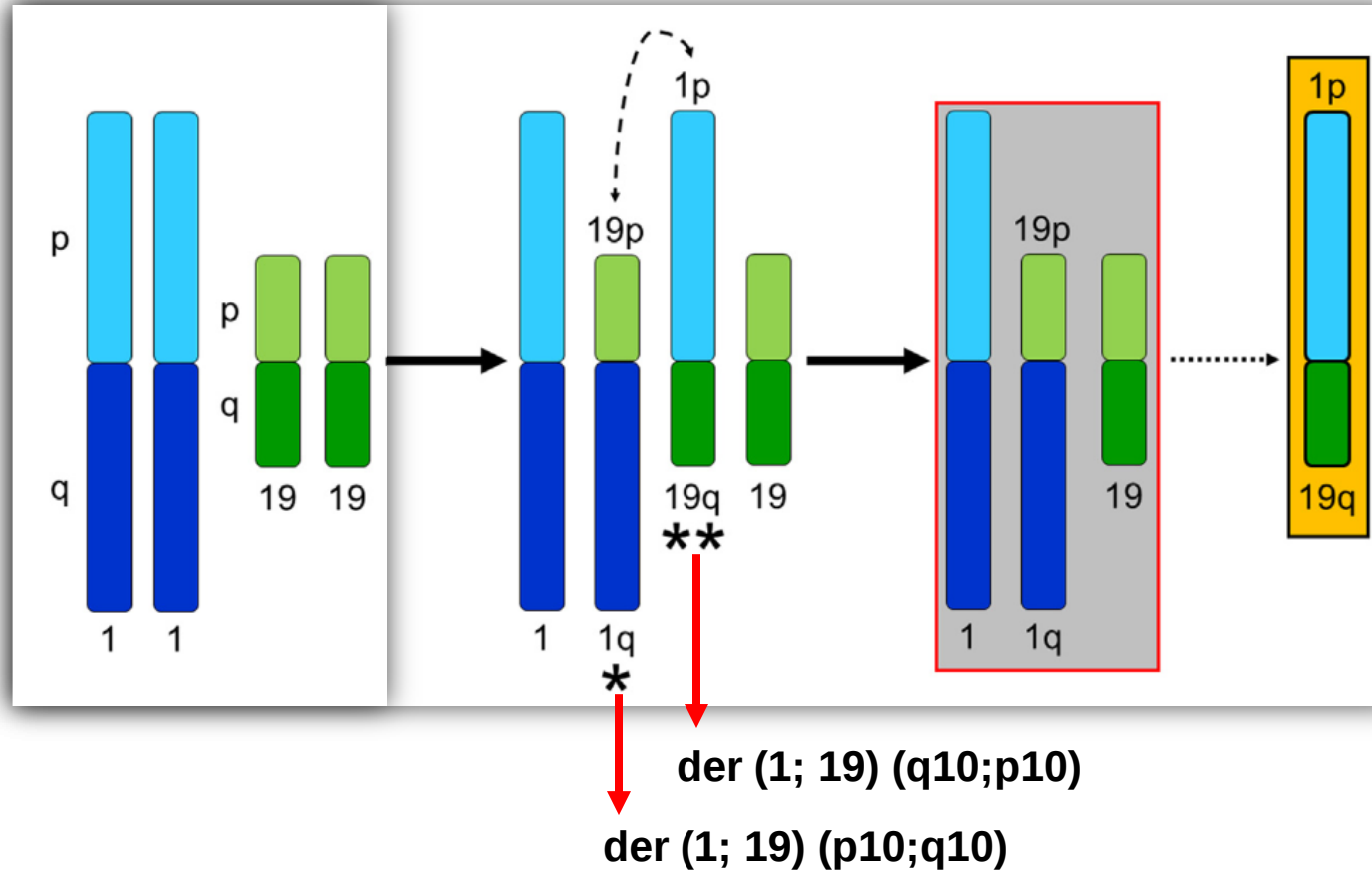
		R132H	CAT	→ 88%	
		R132C	TGT	→ 4%	
		R132L	CTT	→ 1%	
		R132S	AGT	→ 1%	
		R132G	GGT	→ <1%	
		↑			
IDH1	I ¹³⁰	G ¹³¹	R ¹³²	H ¹³³	A ¹³⁴
	ATA	GGT	CGT	CAT	GCT
IDH2	ATT	GGC	AGG	CAC	GCC
	I ¹⁷⁰	G ¹⁷¹	R ¹⁷²	H ¹⁷³	A ¹⁷⁴
			↓		
		R172G	GGG	→ <1%	
		R172M	ATG	→ 1%	
		R172K	AAG	→ 3%	



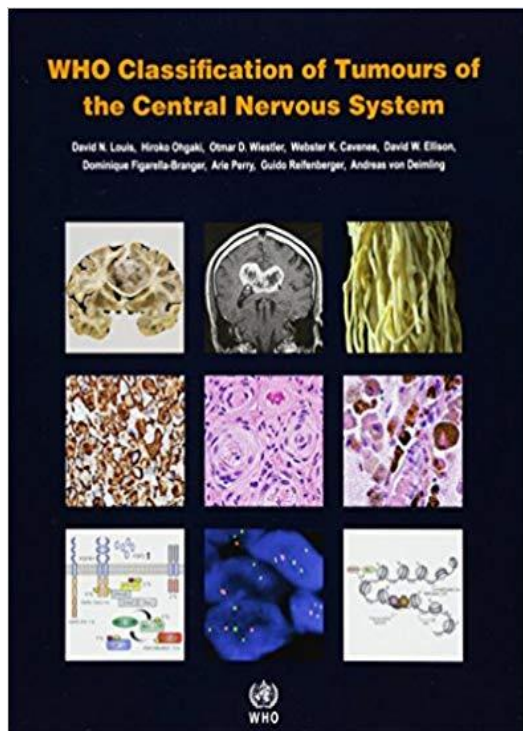
2016



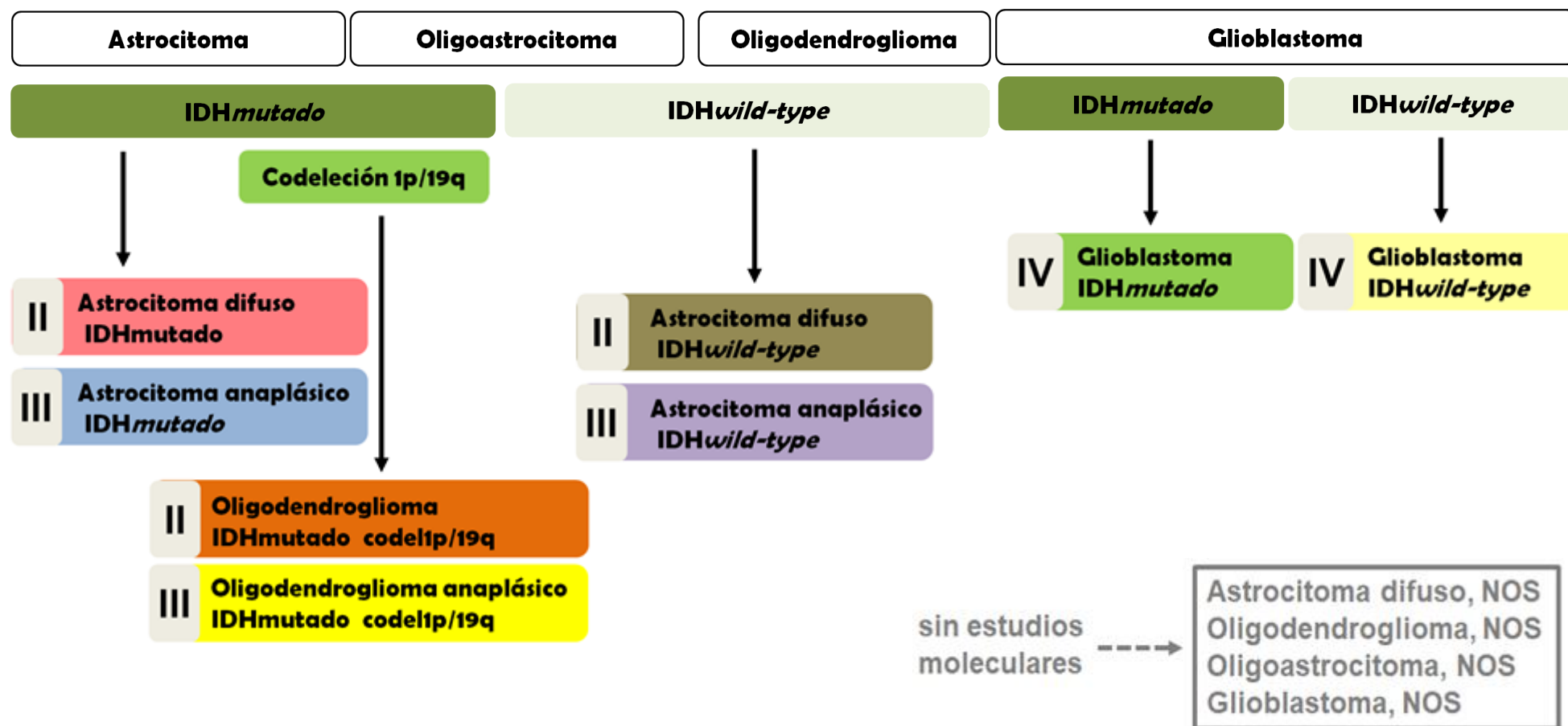
2. Detección de la codeleción 1p19q



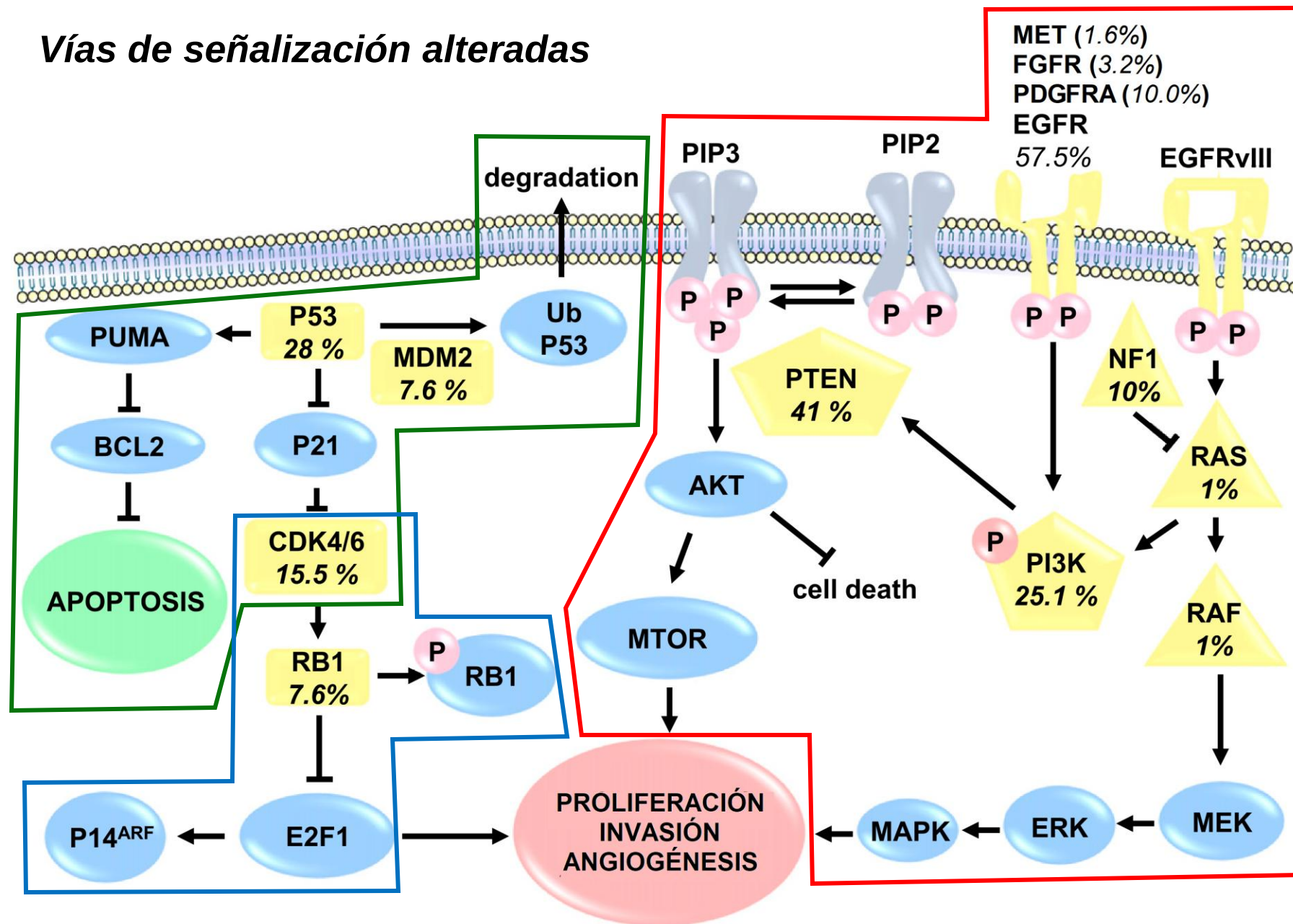
2016



Clasificación 2016 WHO



Vías de señalización alteradas



Vía de RTK/RAS/PI3K

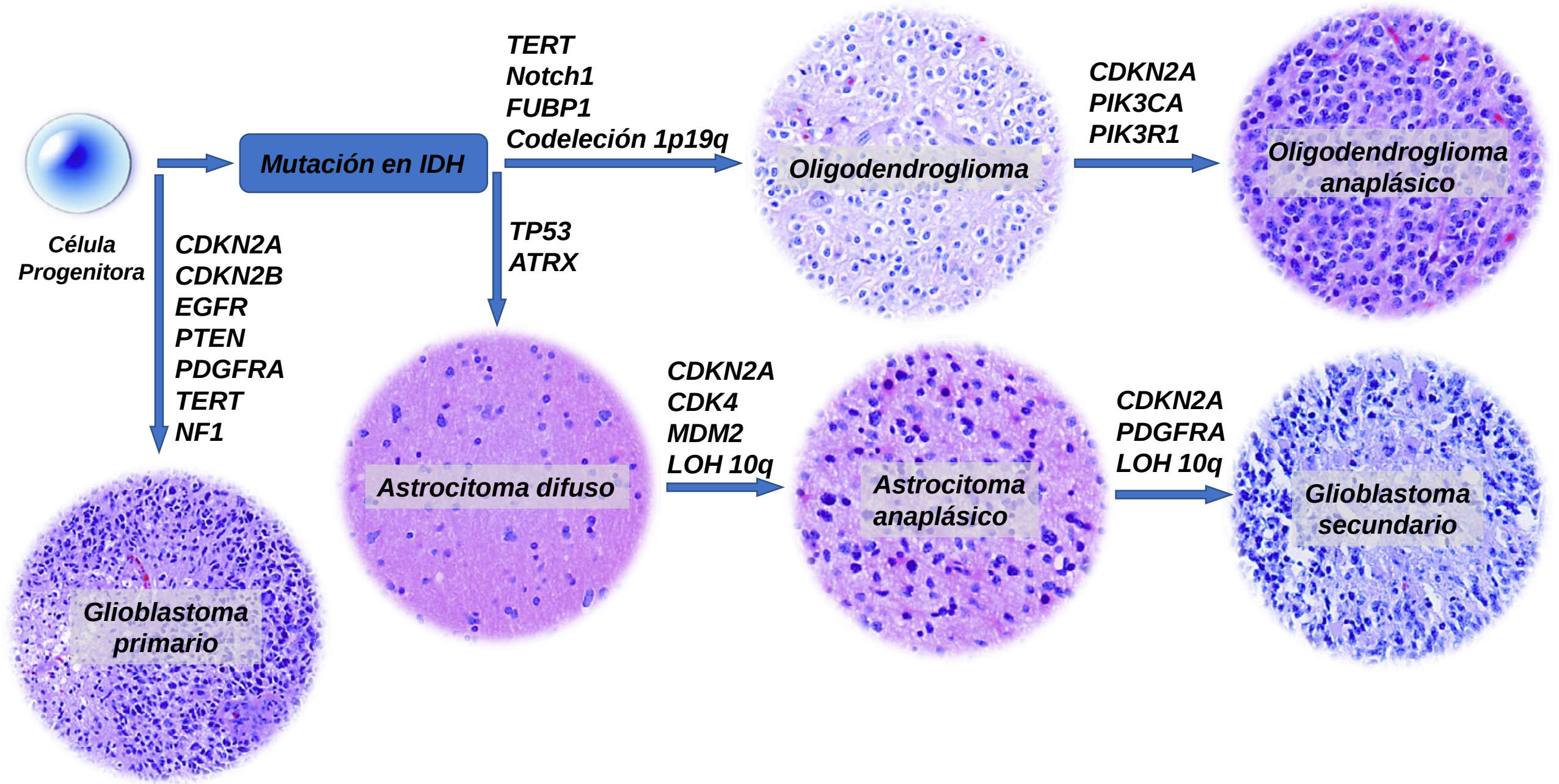
- 45% mutación/amplificación en EGFR
- 13% amplificación en PDGFRA
- 36% mutación/deleción en PTEN
- 18% mutación/deleción en NF1

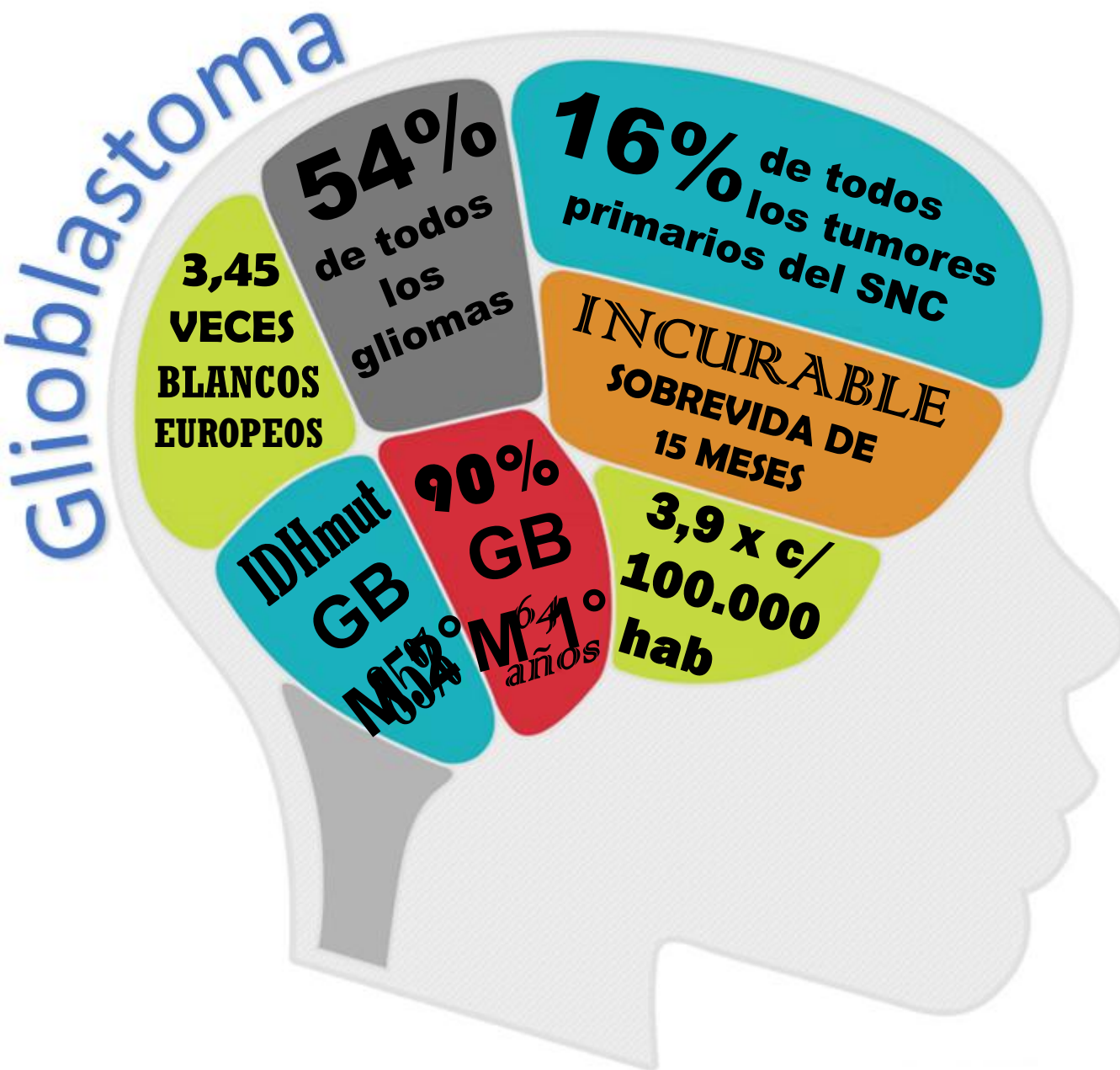
Vía de P53

- 49% mutación/deleción en CDKN2A
- 35% mutación/deleción en TP53
- 14% amplificación en MDM2

Vía de Rb

- 52% mutación/deleción en CDKN2A
- 47% deleción en CDKN2B
- 18% amplificación en CDK4
- 11% mutación/deleción en RB1





Principales diferencias genómicas, epigenómicas, transcriptómicas y proteómicas en GBM

	GBM primario	GBM secundario
Alteraciones genéticas	✓ amplificación de EGFR ✓ delección de CDKN2A-p16^{INK4a} ✓ LOH del cromosoma 10 ✓ mutación en PTEN	✓ mutación en IDH1/2 ✓ LOH de 22q, 13q, 19q ✓ mutación en TP53
Perfiles de expresión gen/proteína	✓ Proteína asociada a centrosomas 350 ✓ Enolasa 1 ✓ Fas ✓ IGFBP2 ✓ MMP-9 ✓ Survivin ✓ Precursor de tenascina-X ✓ VEGF ✓ TK relacionado con VEGF_{fms}	✓ ADAMTS-19 ✓ ASCL1 ✓ Precursor ST-cadherina ✓ DUOX2 ✓ ERCC6 ✓ HNRPA3 ✓ Pérdida de TIMP-3 ✓ PDGFR ✓ TP53 ✓ Precursor de WNT-11k
Metilación de promotores	---	✓ CDKN2A-p14ARF ✓ CDKN2A-p16INK4a ✓ MGMT ✓ RB ✓ TIMP-3

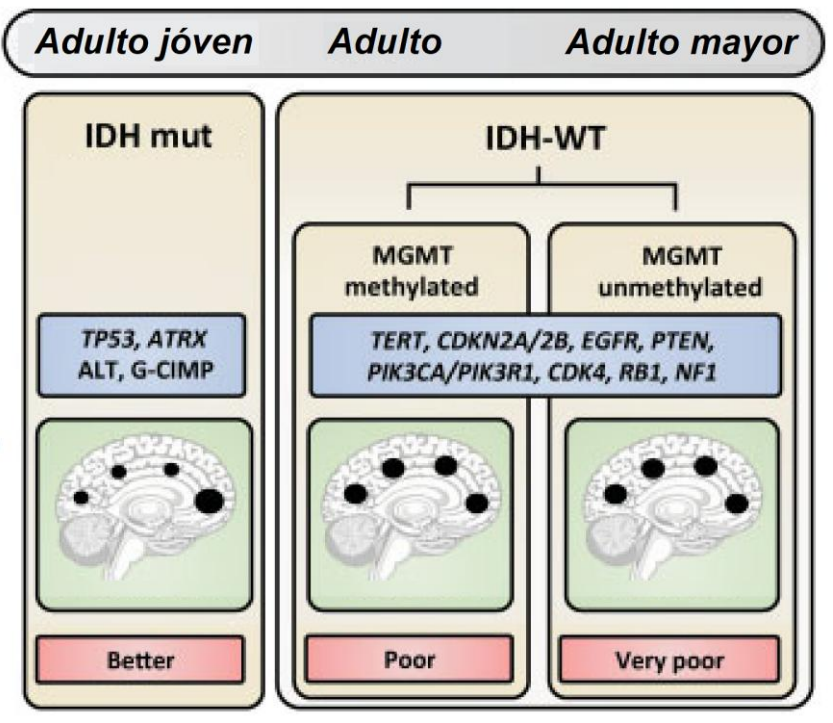
Subgrupos genéticos de GBM tienen perfiles únicos de expresión

	Proneural/Neural	G-CIMP	Clásico	Mesenquimal
Frecuencia	31%	7%	25%	27%
Edad	Adultos jóvenes	Adultos jóvenes	Adultos mayores	Adultos mayores
Pronóstico	Bueno	Bueno	Malo	Malo
Proceso activo	Neurogénesis	Neurogénesis	Proliferación	Angiogénesis
Marcador celular	Neuroblasto	Neuroblasto y no neuroblasto	Stem cell	Stem cell
Aberraciones cromosómicas	Normal cr. 7 y cr. 10	Ganancia de cr. 8 Ganancia de cr. 10	Ganancia de cr. 7 Pérdida de cr. 10	Ganancia de cr. 7 Pérdida de cr. 10
Loci EGFR/PTEN	EGFR normal PTEN intacto	EGFR normal PTEN intacto	Amplificación de EGFR Pérdida de PTEN	Amplificación de EGFR Pérdida de PTEN
Vía alterada	NOTCH, TP53, PDGFRA, PIK3C, IDH	MYC	AKT, CDKN2A	Met, NF1

TCGA, 2008; Jiao Y, 2012; De Vleeschouwer_2018

Secuenciación del ARN *single cell* → **los GBM comprenden subpoblaciones de células tumorales que exhiben la mayoría o la totalidad de estos subtipos de expresión.**

Biomarcadores moleculares de importancia en la práctica clínica



Tratamiento del GBM

Resección + radioterapia post-operatoria (60 Gy) + Temozolomida (75mg/m² → 150-200 mg/m²)

Estudio (año)	Esquema tto	n	Sobrevida (meses)
Stupp et al (2005), EORTC/NCIC	RT control	286	12.1
	TMZ/RT	287	14.6 (p < 0.0001)
Gilbert et al (2013), RTOG 0525	TMZ/RT dosis standard	411	16.6
	TMZ/RT dosis mayor	422	14.9 (p < 0.63)
Gilbert et al (2014), RTOG 0825	TMZ/RT	309	16.1
	TMZ/RT/Bevacizumab	312	15.7 (p < 0.21)
Chinot et al (2014), AVAglio	TMZ/RT	463	16.7
	TMZ/RT/Bevacizumab	458	16.8 (p < 0.10)
Stupp et al (2014), CENTRICa	TMZ/RT	273	26.3
	TMZ/RT/Cilengitide	272	26.3 (p < 0.86)
Stupp et al (2017), EF-14	TMZ/RT	229	16.0
	TMZ/RT/TTF	466	20.9 (p < 0.001)

Bevacizumab: anticuerpo monoclonal humanizado contra el factor de crecimiento endotelial vascular

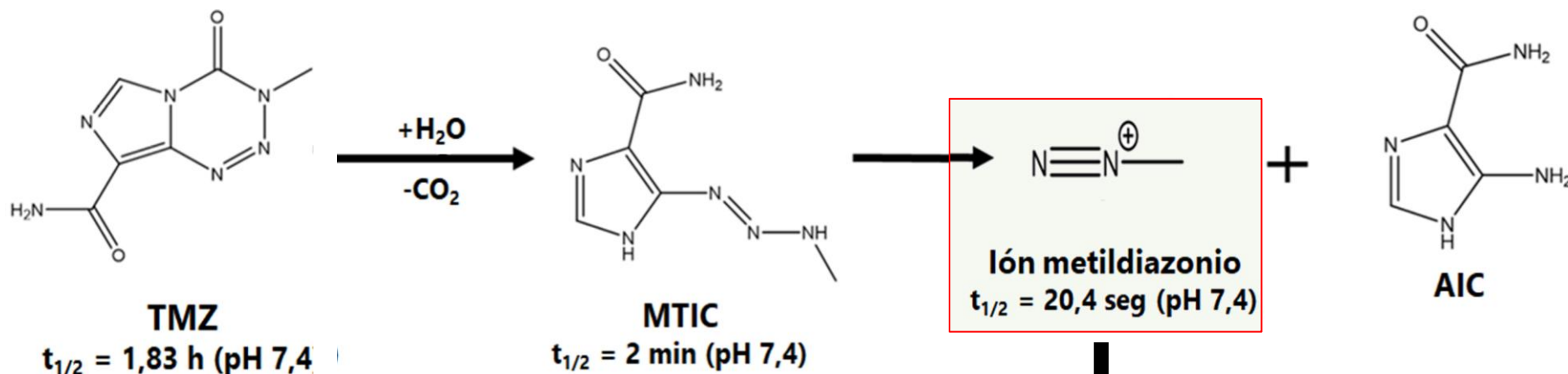
Cilengitida: inhibidor de la integrina con actividad antiangiogénica.

Campos de tratamiento con radiofrecuencia (TTF): >18 hs/día en cuero cabelludo afeitado.

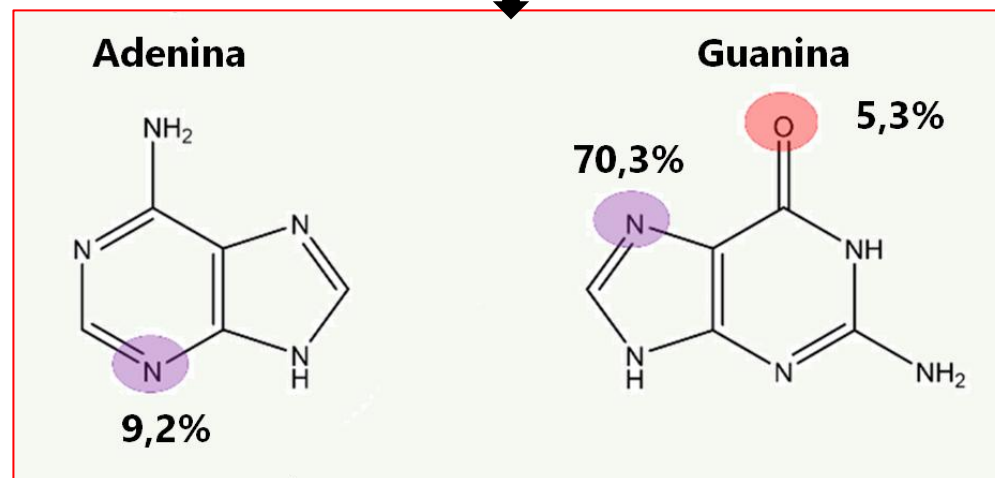
Tratamiento del GBM

Temozolomida ➡ agente alquilante que pertenece al grupo de los compuestos de triazeno.

Transfiere sus grupos alquilo electrofílicos a átomos de nitrógeno y oxígeno extracíclico de las bases de ADN.

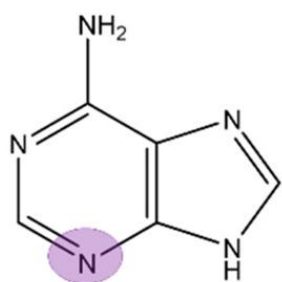


Profármaco
Atraviesa barrera hematoencefálica
No requiere metabolización



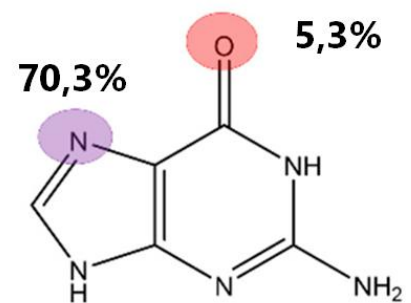
Temozolomida

Adenina



9,2%

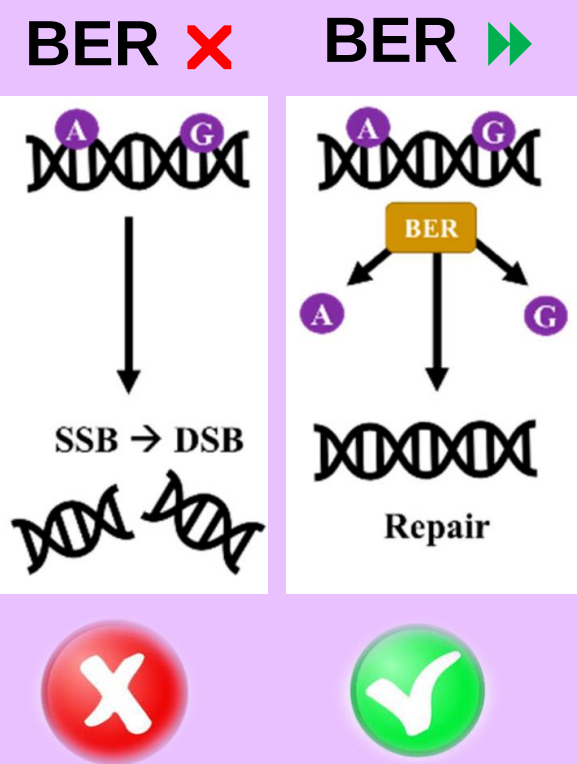
Guanina



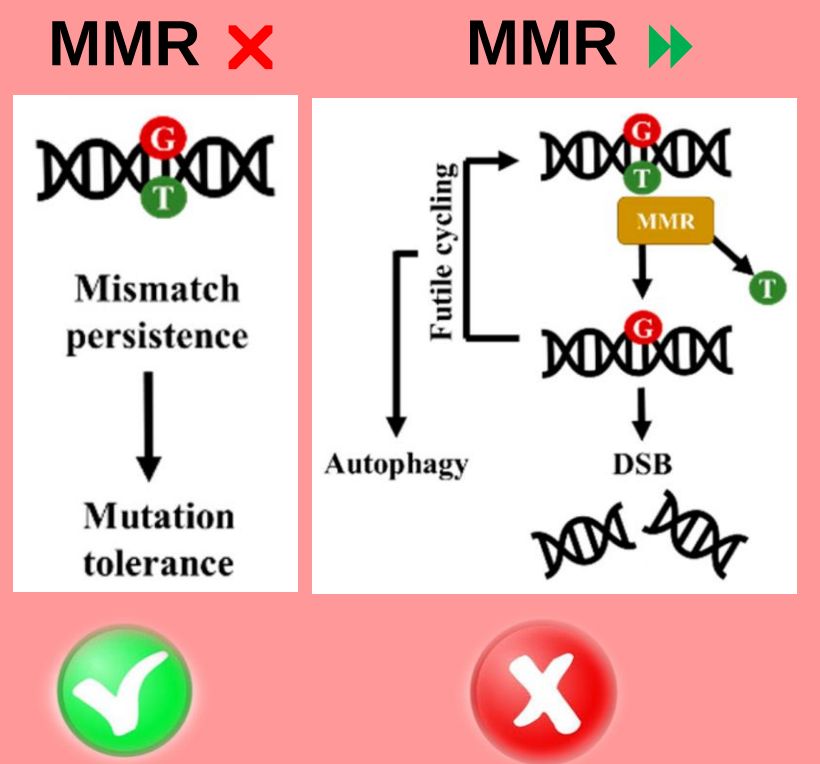
70,3%

5,3%

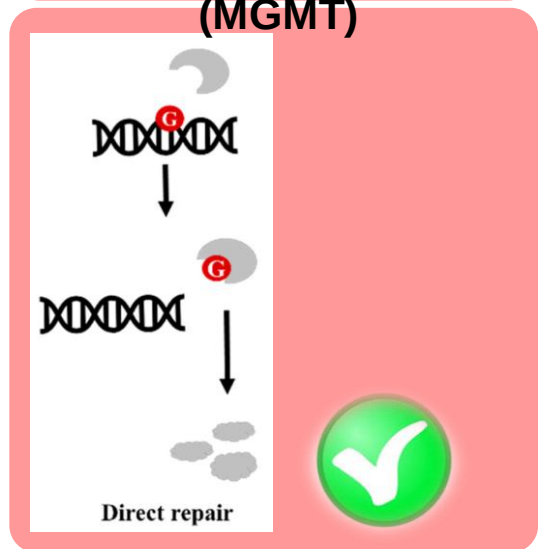
Reparación por escisión de base (BER)



Reparación de desapareamiento de bases (MMR)



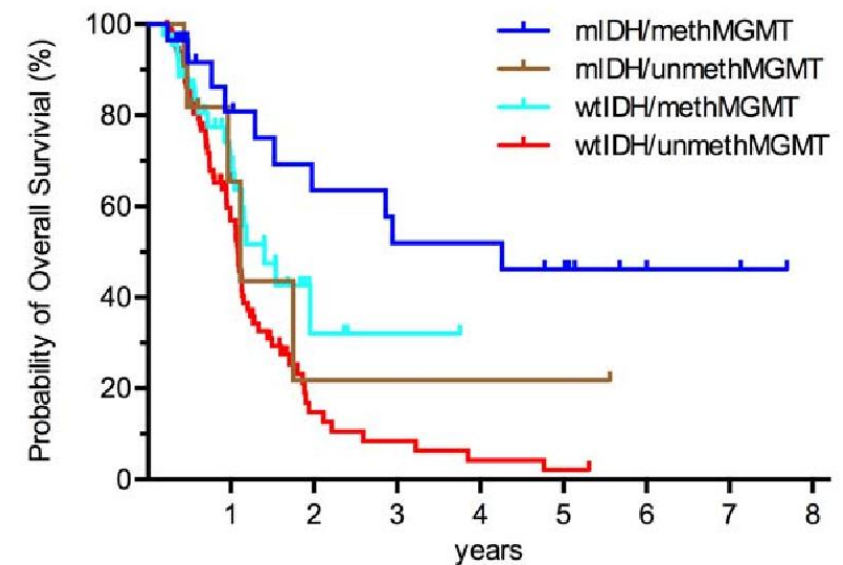
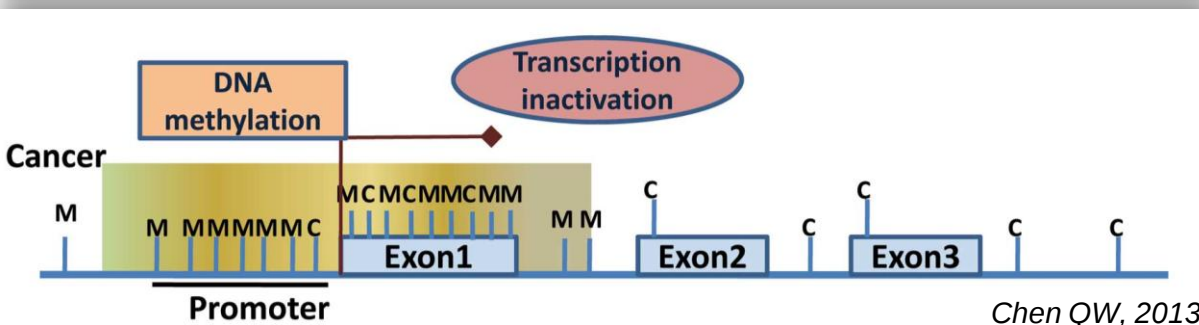
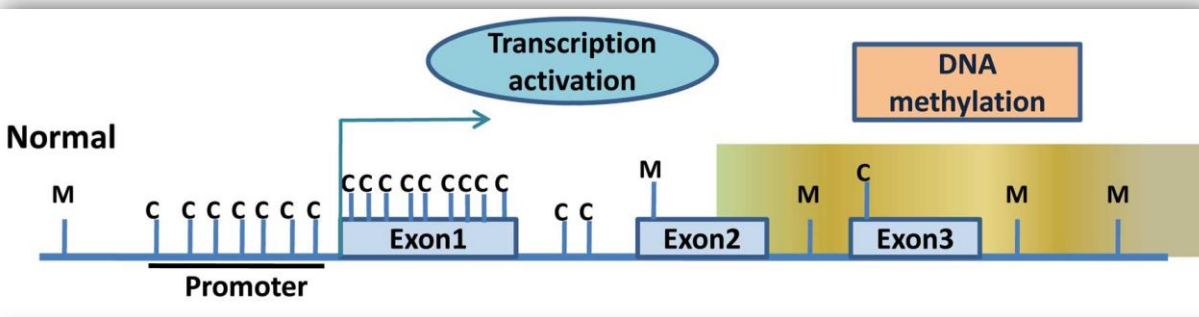
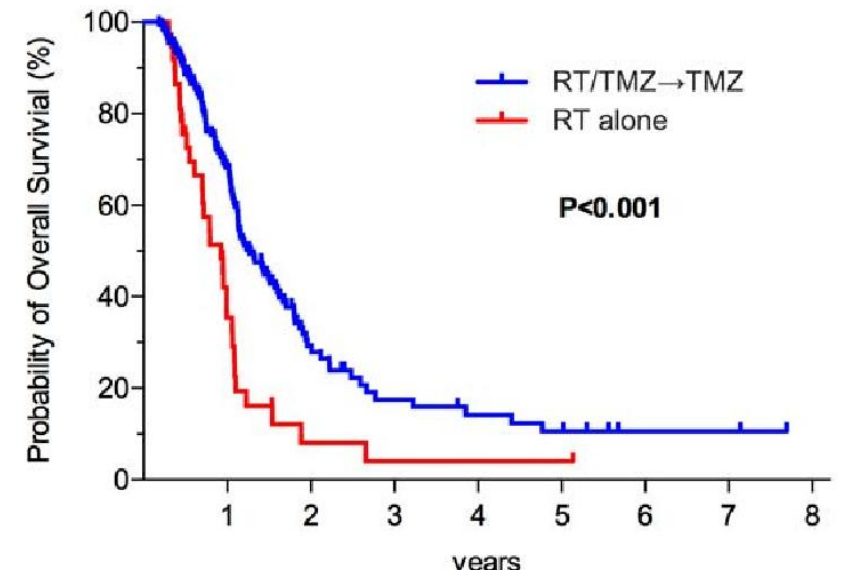
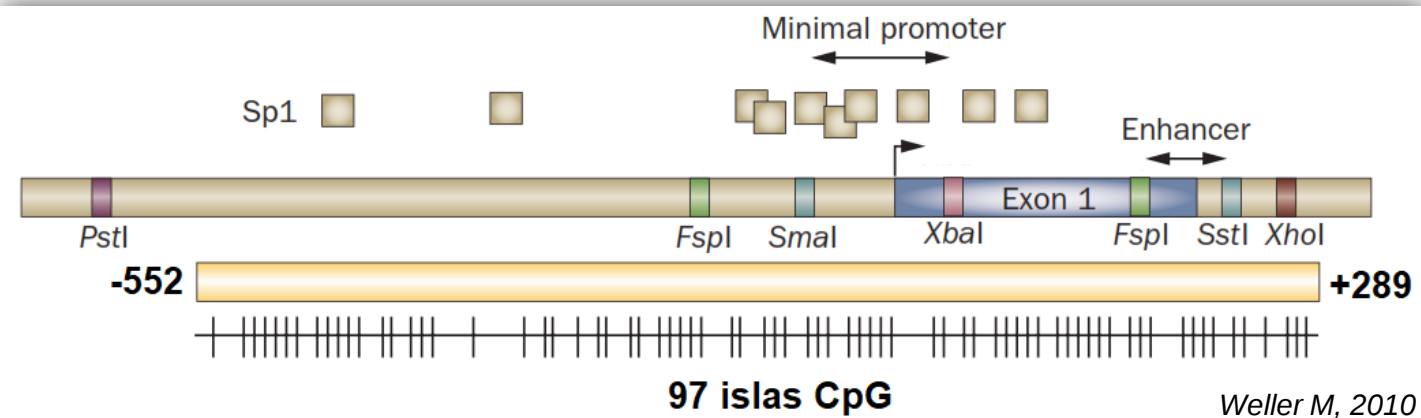
O⁶-metilguanina ADN metiltransferasa (MGMT)



MGMT ✖

MGMT ✔

O⁶-metilguanina ADN metiltransferasa (MGMT)



Diferentes tratamientos de GBM basados en mecanismos químicos e inmunológicos

Anti-angiogénicos

Targets VEGF

Avastin (bevacizumab),
Altiratinib, Panobinostat

Targets TAEC

Trebanai

Disruptores de kinasas

Enzastaurin

Inhibidores de PDGFR

Crenolabib, AZD2171,
Tandutinib

Inhibidores de AuroraA

TC-A2317

Inhibidor de kinasa

Inhibidor PI3K / mTor

GDC-0084

Molecular targeting

Modificadores del ADN

Mibefradil, Gliadel

Bloqueantes de mitosis

ANG 1005

Inhibidores de EGFR

Afatinib

Desactivadores NFkB

CBL0137 (Curaxins)

Inhibición de miRNA

Targets de miRNAs

TargoMIR

Terapia génica

Genes activadores de
citotoxicidad

TOCA511 + TOCAFC

Inmunoterapia activa (vacunas)

Vacuna con péptidos

Rindopepimut, SurVaxM

Vacuna autóloga

ICT-107, HSPPC-96,
Gliovac, IMA950, DCVax-L

Inhibidor de GBM stem cell

Targets de GBM stem cells

ICT-107 (DC cells)

Terapia virales

Parvovirus oncolítico

ParvOryx

Inmunoterapia pasiva (basada en anticuerpos)

Ab contra EGFR

Depatux-M, Asunercept

Ab contra PDGFRA

MEDI-575, MEDI-3617

Inmunoterapia pasiva (basada inhibición *check point*)

Neutralizante de CXCL12

DNOX-A12

Inhibidor IDO

Indoximod

Nanoterapia

Potenciador de Doxorubicina

Nanocell

Clasificar los gliomas en subgrupos molecularmente homogéneos mediante la incorporación de biomarcadores moleculares, los cuales aportarán información del pronóstico y la predicción de respuesta al tratamiento.

- *Pacientes entre 20-85 años que se hayan realizado una biopsia de tumor glial.*
- *Diagnóstico entre los años 2005 y 2017.*
- *Muestras de biopsias de archivo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital de Emergencias “Dr. Clemente Álvarez” y del Centro de Diagnóstico Patológico S.R.L.*

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- *Pacientes sometidos a una biopsia de tumor glial de SNC en los años estipulados.*
- *Con estudio histológico compatible con el diagnóstico de glioma.*
- *Se disponga con cantidad y calidad del material suficientes para la realización de estudios moleculares.*
- *Posean datos en la historia clínica.*

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- *Individuos con estudio histológico no compatible con el diagnóstico de glioma.*
- *No se posea material suficiente para realizar todos los estudios moleculares.*
- *Con historia clínica incompleta.*
- *Individuos con más de un cáncer primario o diagnosticados post-mortem.*

Criterios de inclusión

89 casos CDP (GG)

50 casos SAP (HECA)

139 CASOS TOTALES

Criterios de exclusión

119 CASOS TOTALES



n: 41

edad: 52 [22-80] años



n: 78

edad: 55 [23-83] años

Diagnóstico inicial



REVISIÓN

*Criterios diagnósticos y grado
Estudios IHQ realizados
Estudios moleculares*



Diagnóstico final integrado

Validado por 2 patólogos

Variantes en 132-IDH1 y 173-IDH2

INMUNOHISTOQUÍMICA

R132H en el gen IDH1

AMPLIFICACIÓN DE SONDAS DEPENDIENTE DE LIGANDOS MÚLTIPLES (MLPA)

R132H/C en IDH1 + R172K/M en IDH2

SECUENCIACIÓN DIRECTA

Variantes 132-IDH1 + 173-IDH2

Codelección 1p/19q

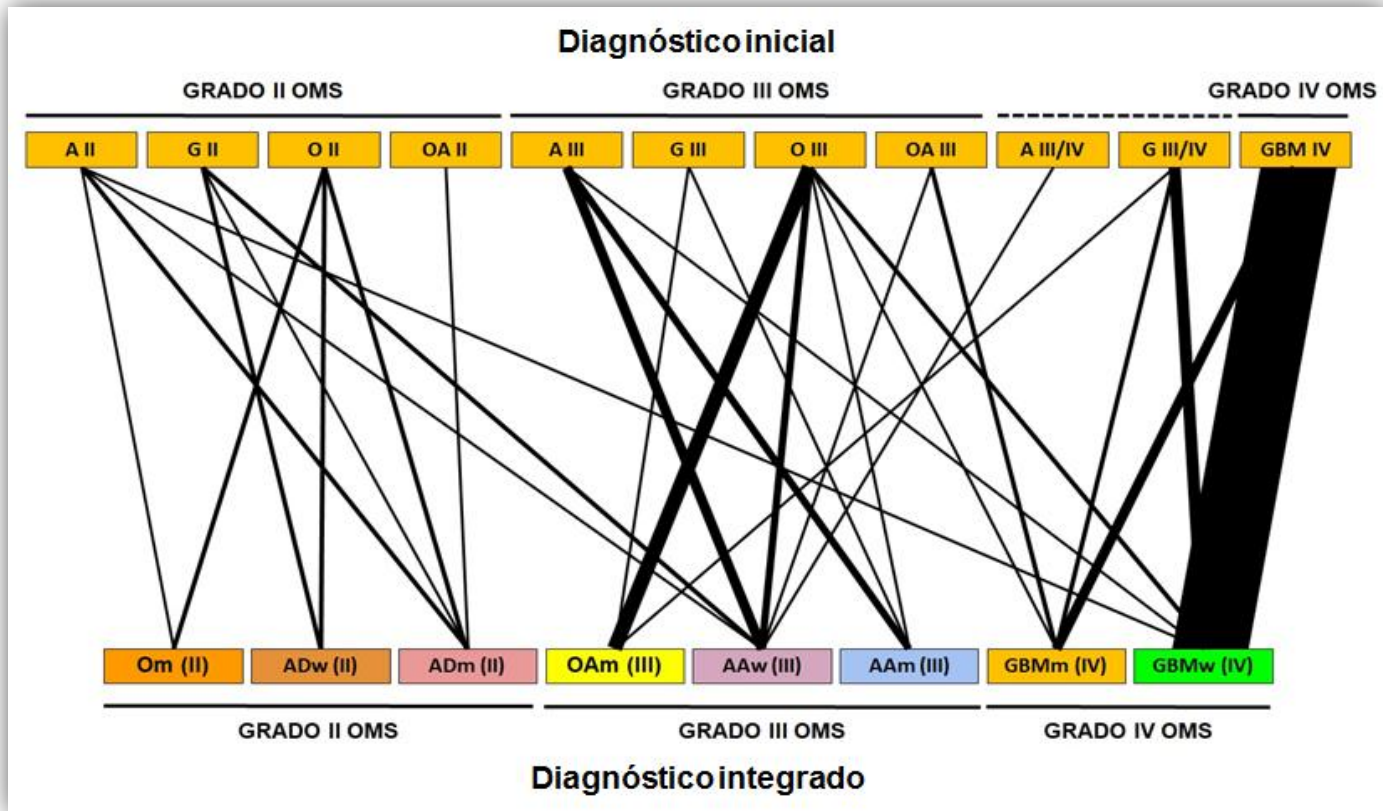
AMPLIFICACIÓN DE SONDAS DEPENDIENTE DE LIGANDOS MÚLTIPLES (MLPA)

MÉTODO	POSITIVOS	NEGATIVOS
IHQ	23	96
MLPA	26	93
SEQ	29	90

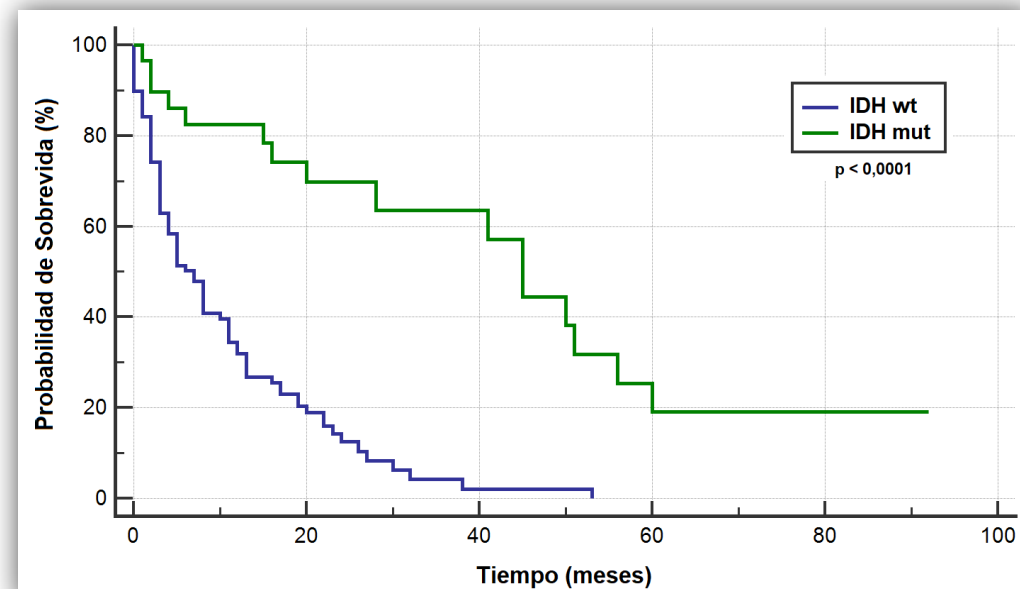
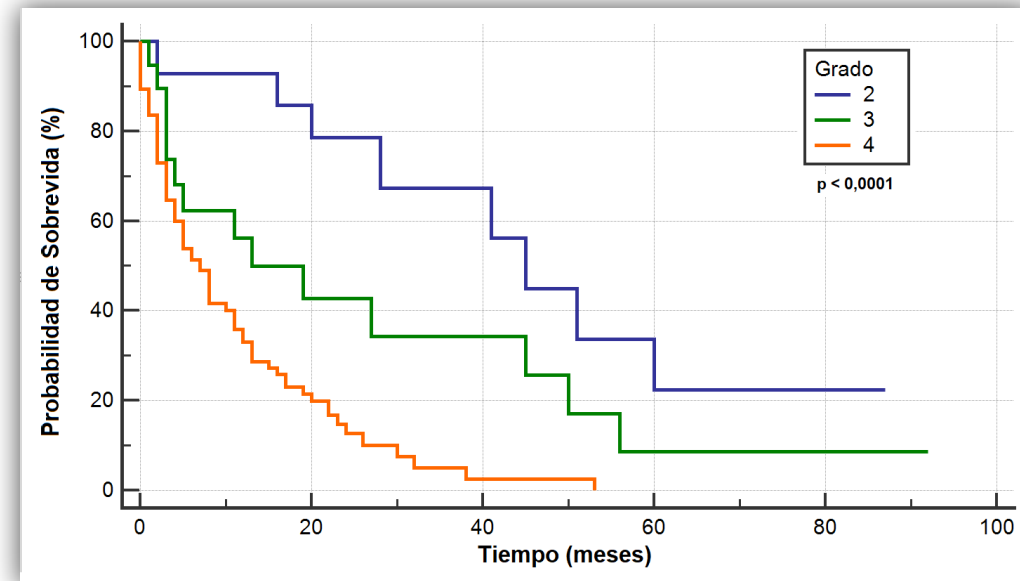
➡ *2c R132H + 1c R172K*

➡ *1c R132C + 1c R172G + 1c R172S*

II	Oligodendroglioma, IDH mut y codel 1p19q	Om	5 casos
III	Oligodendroglioma anaplásico, IDH1 mut y codel1p19q	OAm	3 casos
II	Astrocitoma difuso, IDH wt	ADw	2 casos
III	Astrocitoma anaplásico IDH wt	AAw	10 casos
II	Astrocitoma difuso, IDH mut	ADm	8 casos
III	Astrocitoma anaplásico, IDH mut	AAm	6 casos
IV	GBM IDH mut	GBMm	7 casos
IV	GBM IDH wt	GBMw	78 casos



- ✓ Diagnóstico integrado permitió definir estirpe tumoral en todos los casos.
- ✓ Todos los casos con morfología dual resultaron ser Astrocitomas.
- ✓ La morfología oligodendrogial no fue determinante de estirpe, por lo cual se necesitan marcadores moleculares para definir el diagnóstico.
- ✓ Los criterios morfológicos de GBM fueron inequívocos.
- ✓ Los criterios morfológicos se modificaron en tumores de bajo grado.
- ✓ La población estudiada mantuvo la proporción de la incidencia de estos tumores.



Perfil de metilación del pMGMT

AMPLIFICACIÓN DE SONDAS DEPENDIENTE DE LIGANDOS MÚLTIPLES – METILACIÓN ESPECÍFICA (MS-MLPA)

Genes de vías metabólicas

AMPLIFICACIÓN DE SONDAS DEPENDIENTE DE LIGANDOS MÚLTIPLES (MLPA)

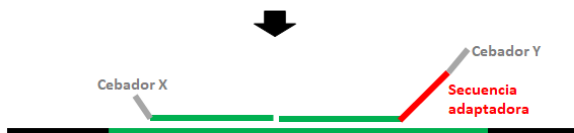
PDGFRA, EGFR, CDKN2A, PTEN, MGMT, CDK4, MDM2, NF κ B, TP53

SECUENCIACIÓN DIRECTA

Variantes en TP53 y pTERT

AMPLIFICACIÓN DE SONDAS DEPENDIENTE DE LIGANDOS MÚLTIPLES (MLPA)

a- *Desnaturalización de DNA e Hibridación*



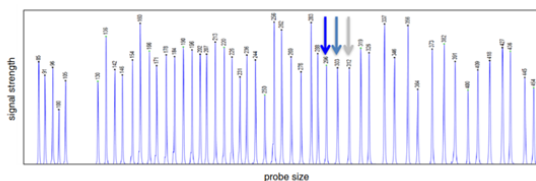
b- *Reacción de Ligación*



c- *Reacción de Amplificación*

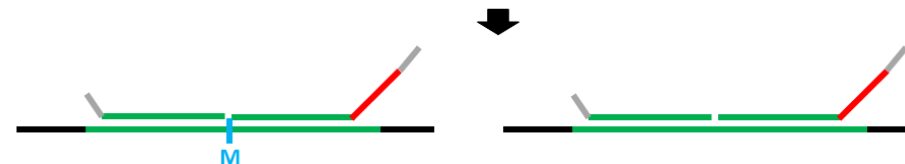


d- *Separación por electroforesis capilar*



AMPLIFICACIÓN DE SONDAS DEPENDIENTE DE LIGANDOS MÚLTIPLES - METILACIÓN ESPECÍFICA (MS-MLPA)

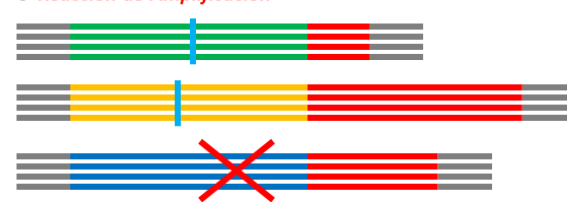
a- *Desnaturalización de DNA e Hibridación*



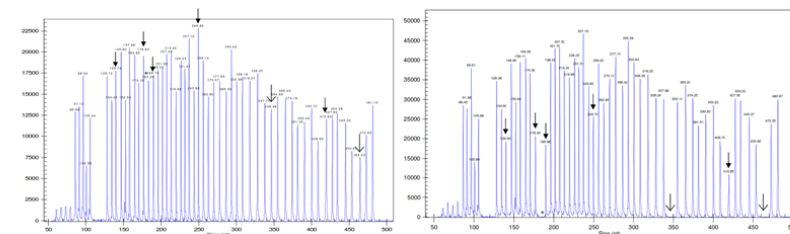
b- *Reacción de Ligación / Reacción de Ligación + Digestión*



c- *Reacción de Amplificación*



d- *Separación por electroforesis capilar*



- ## ***Landscape de alteraciones génicas en gliomas***

Patrones en el perfil de metilación del pMGMT

tcgccaccacaggccctggaggctgccccacggccggtctctgtgtgtctgggggtccctgactaggggagcggcaccaggaggggagagactcgcgctccgggc
tcagcgtagccgccccgagcaggaccgggattctcactaagcggcgccgctctacgacccccggcggtttcaggaccactcgggcacgtggcaggctcgtttgca
gcccgcggactatcctgtgacaggaaggttacgggccatttggcaactaaggcacagagcctcaggcgggaagctgggaagcgccgccccggttgtaccggccg
aagggccatccgggtcagcgccacagggcagcggcgctgcgggaggaccagggcgccggtgcggcggtccagcagaggatcgccagagctgcctcagcccgccg
cgacagggcatcgccgacccggctcggggcggaacaccccgccccctccggggtccgccccagctccgcccccgccgcccccgccgcccccgccgctctctt
gcttttctcaggtctcgggtccgccccgctctagaccccgccccacgcgcctcccggtgccCTCGGCCCCGCCCGCGCCCGGATATGCTGGGACAGCCCC
CGCCCTAGAACGCTTTCGCTCCCGACGCCCGCAGGTCCTCGCGTGGCACCGCTTTCGCGACTTGGtgtagtgtctgggtgcctcgtctcccggaagagtgcggagct
ctccctcgggagcgttgccagcctcagtggttctcagcgccgctcaggggtgtggggcgccgctgacccccacccatcccgggcgagctccaggtgc
gccccaaagtgcctccaggtgttgcgccagcctttcccgggcgctggggttctcggactaggtctcaggcccgggccccgggttcttctacccttccatgctgccag
ctttccctccgacagctgctccaggaagcttcagaagccctgcggggccttggcttgacgaaccccttagcatacttaggcagagtcctcatattctctctg

MLPA/140pb

MLPA/190pb

MLPA/124pb

MLPA/160pb

MLPA/215pb

MLPA/172PB

CTACGACCCCGCGCGCTTTCAGGACCACTCGGGACGTTGGCAGGTGCTTGCACGCCCG

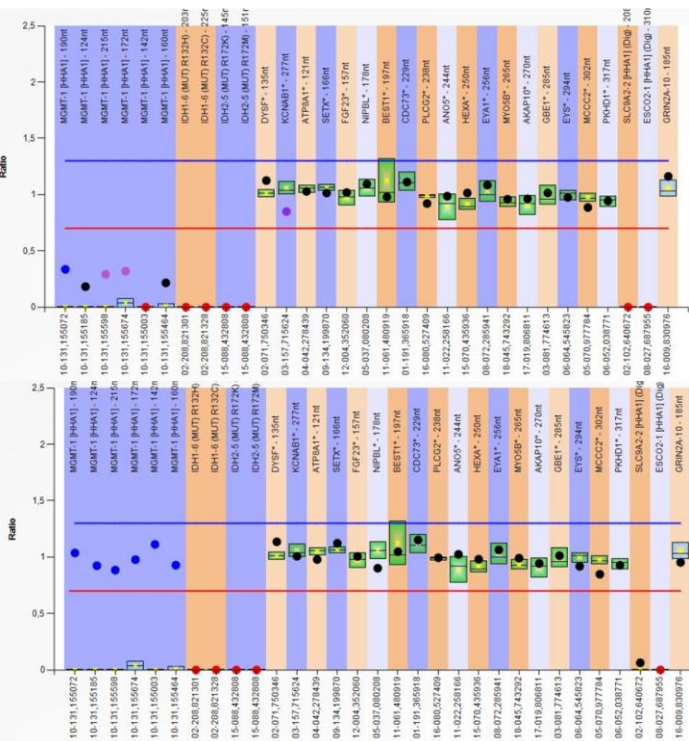
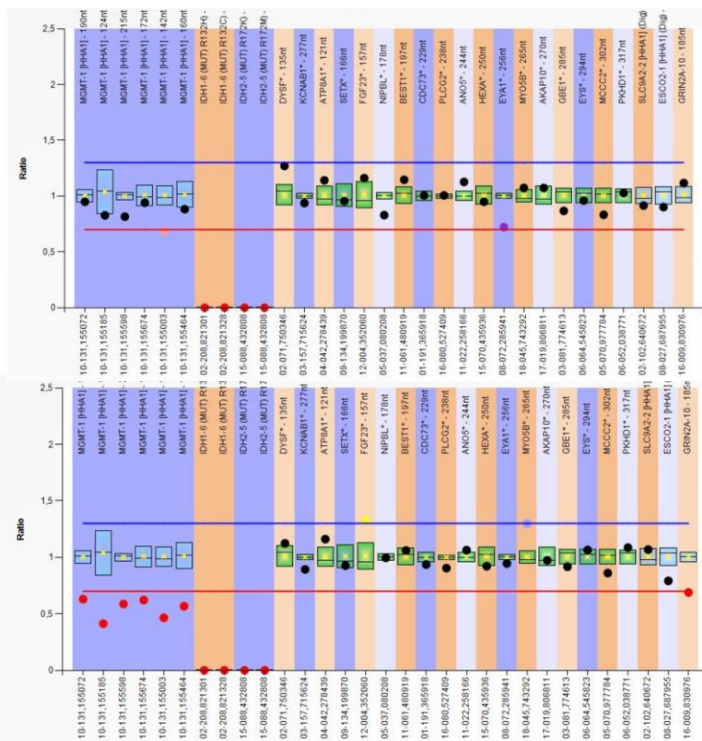
CCTGTGACAGAAAAGTACGGCCATTTCGCAAACTAAGGCACAGAGCCTCAGCGGAAGCTGGGAAGGCGCCGCCCGGCTTGTACCGG

GCACAGGCGAGCGCGCTCGCGGAGGACAGGGCGCGCGCTCGCGGCTCCAGCGAGGATGCGCAGACTGCCCTAGGCG

CGGATATGCTGGGACAGCCCGCGCCCTAGAACGCTTTCGGTCCCGACGCCCGCAGGTCTCTCGCGG

CTCGGACGGTGGCAGCCTCGAGTGGTCTCTGCAAGCGCCCTCACCTTCGCCGTGGGTGT

ACCATCCCGGGCGAGTCCAGGTGCGGCCCAAGTGCCCTCCAGGTGTTGCCACGCTTTT



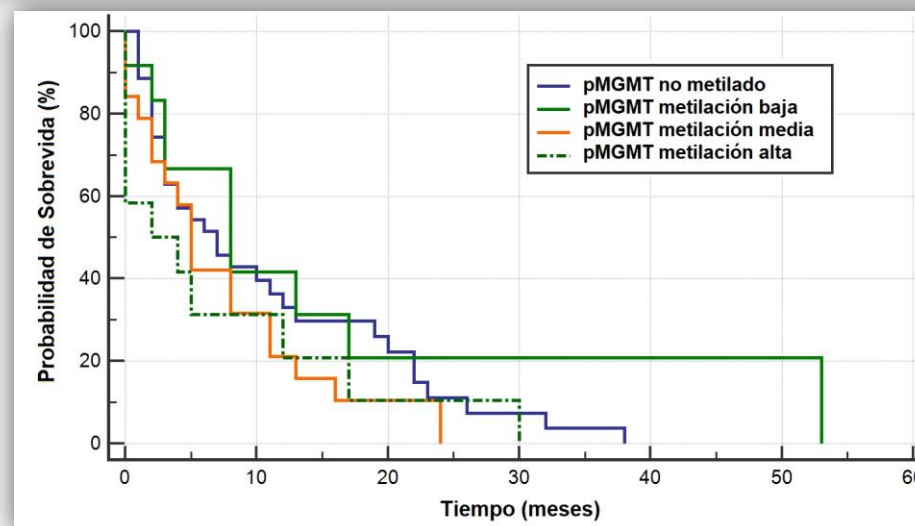
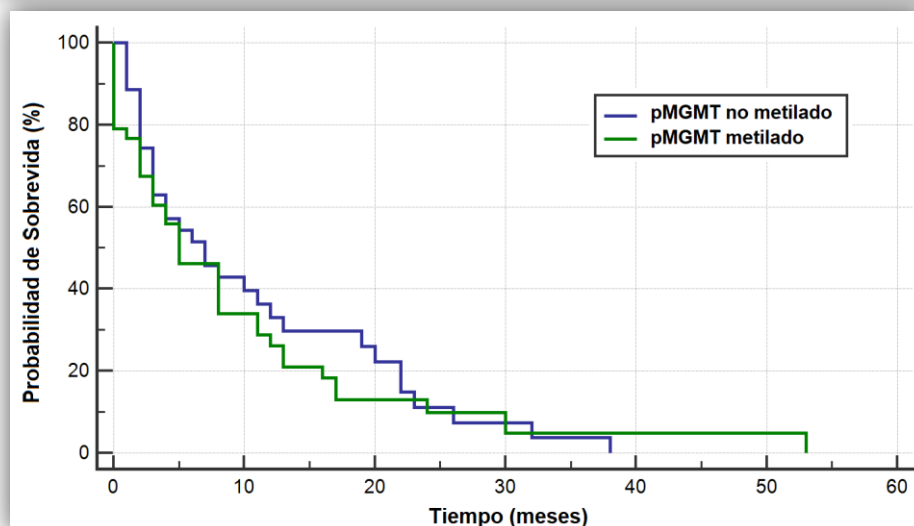
GBMwt (GIV)
N° normal de alelos del pMGMT
Metilación baja del pMGMT

GBMwt (GIV)
Delección HT (1 alelo) del pMGMT
Metilación media del pMGMT

Estado del pMGMT en GBM

	M8961	Glio8	M7464	H15	Glio 16	Glio7	M7698	Glio 20	M7816	H35	G23	G30	G32	G33	G45	Glio2	H28	Glio10	G09	G18	G36	G37	G43	G44	G46	G49	Glio1	H01	H02	H10	H23	H26	H37	H47	H50	G22	Glio 18	H12	M7465	M7558			
GENERO	M	M	F	M	M	M	M	F	M	M	M	F	M	F	M	M	F	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F	M	M	F	F	F	M	M	F	M	M	M	F	M			
Edad	55	25	47	39	59	38	67	57	52	69	72	55	49	48	72	72	46	61	60	62	51	60	68	80	53	63	44	57	67	56	58	40	48	55	64	71	50	54	40	56			
DX integrado																																											
GRADO	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV			
metilación																																											
pMGMT (ratio)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,6	0,8	0	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2		
pMGMT DEL																																											

	G10	G12	G40	G42	Glio12	H03	H19	G39	H05	H08	H13	H32	G11	G48	H16	H49	G31	H17	H40	H42	M7545	G21	G26	G47	Glio 14	Glio3	G01	G24	H43	G16	G29	G02	H38	Glio11	H25	G14	H36	H46	H44	M8376	G03	G15	G17	G05	G08
GENERO	M	F	M	M	F	F	F	M	M	M	F	F	M	M	M	M	F	M	F	F	M	F	M	M	F	M	F	F	F	M	F	M	F	M	F	F	M	M	F	M	M	M	M	M	
Edad		49	58	54	58	58	22	68	56	62	57	60	73	69	ns	52	74	55	61	47	52	57	78	58	38	67	62	74	41	57	52	61	55	83	49	54	59	62	55	64		80	60	53	77
DX integrado																																													
GRADO	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	
metilación																																													
pMGMT (ratio)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,9	0,9	1	1	1,1	1,1	1,2	1,6	3,5
pMGMT DEL																																													



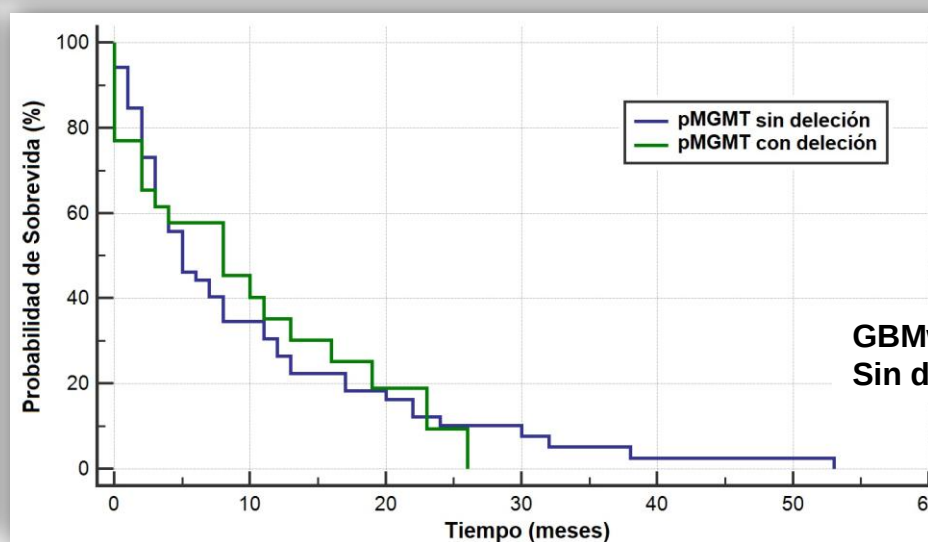
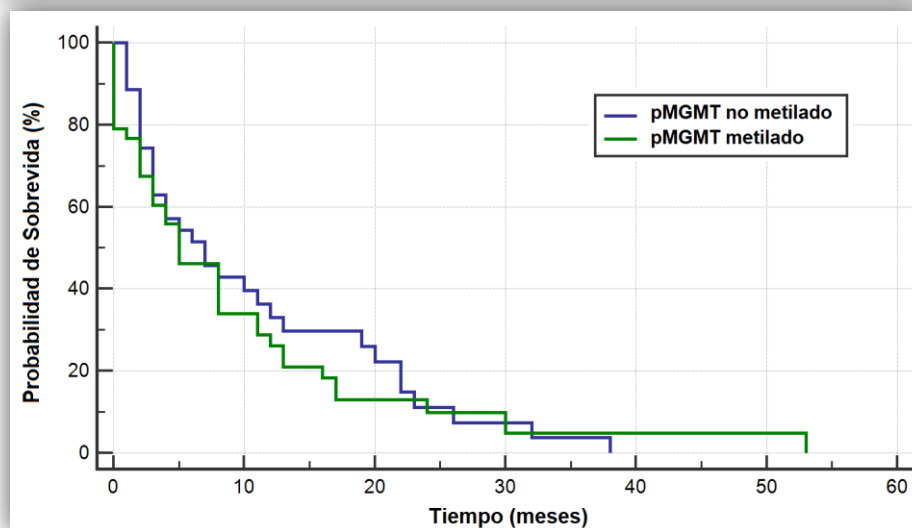
GBMwt (GIV)
pMGMT metilado → mayor supervivencia

GBMwt (GIV)
El grado de metilación de pMGMT no es un buen marcador pronóstico

Estado del pMGMT en GBM

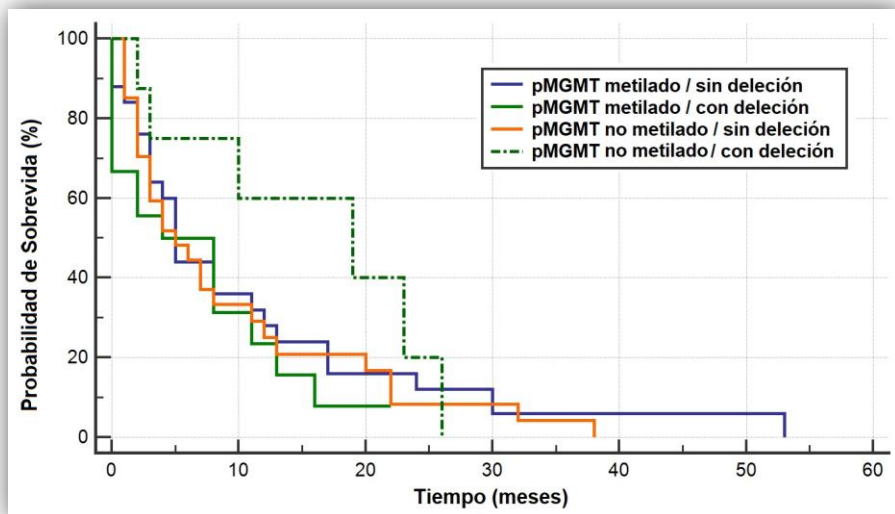
	M8961	Glio8	M7464	H15	Glio 16	Glio7	M7698	Glio 20	M7816	H35	G23	G30	G32	G33	G45	Glio2	H28	Glio10	G09	G18	G36	G37	G43	G44	G46	G49	Glio1	H01	H02	H10	H23	H26	H37	H47	H50	G22	Glio 18	H12	M7465	M7558							
GENERO	M	M	F	M	M	M	M	F	M	M	M	F	M	F	M	M	F	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F	M	M	F	F	F	M	M	F	M	M	M	F	M							
Edad	55	25	47	39	59	38	67	57	52	69	72	55	49	48	72	72	46	61	60	62	51	60	68	80	53	63	44	57	67	56	58	40	48	55	64	71	50	54	40	56							
DX integrado																																															
GRADO	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV							
metilación pMGMT (ratio)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,6	0,8	0	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2						
pMGMT DEL																																															

	G10	G12	G40	G42	Glio12	H03	H19	G39	H05	H08	H13	H32	G11	G48	H16	H49	G31	H17	H40	H42	M7545	G21	G26	G47	Glio 14	Glio3	G01	G24	H43	G16	G29	G02	H38	Glio11	H25	G14	H36	H46	H44	M8376	G03	G15	G17	G05	G08
GENERO	M	F	M	M	F	F	F	M	M	M	F	F	M	M	M	M	F	M	F	F	M	F	M	M	F	M	F	F	F	M	F	M	F	M	F	F	M	M	F	M	M	M	M	M	
Edad		49	58	54	58	58	22	68	56	62	57	60	73	69	ns	52	74	55	61	47	52	57	78	58	38	67	62	74	41	57	52	61	55	83	49	54	59	62	55	64		80	60	53	77
DX integrado																																													
GRADO	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV
metilación pMGMT (ratio)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,9	0,9	1	1	1,1	1,1	1,2	1,6	3,5
pMGMT DEL																																													



GBMwt (GIV)
Sin deleción de pMGMT → mayor sobrevida

Estado del pMGMT en GBM



Sobrevivencia

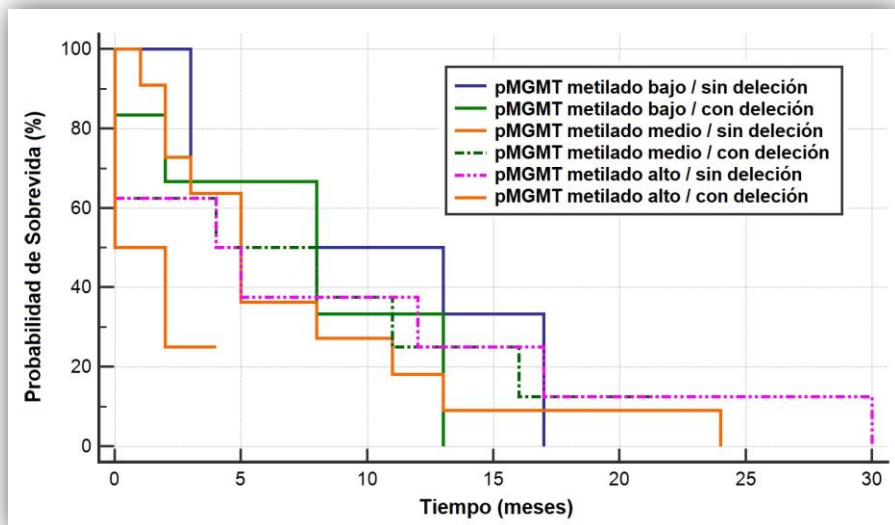
GBMwt (GIV)

pMGMT metilado y sin delección de pMGMT

pMGMT no metilado y sin delección de pMGMT

pMGMT no metilado y con delección de pMGMT

pMGMT metilado y con delección de pMGMT



Sobrevivencia

GBMwt (GIV)

pMGMT metilado alto y sin delección de pMGMT

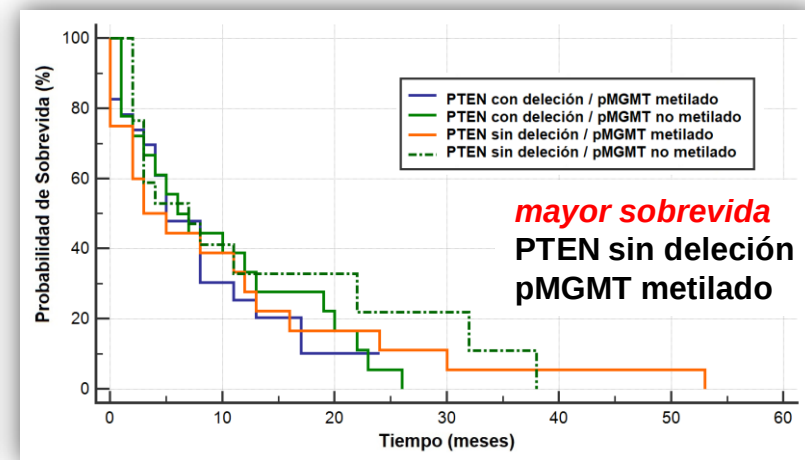
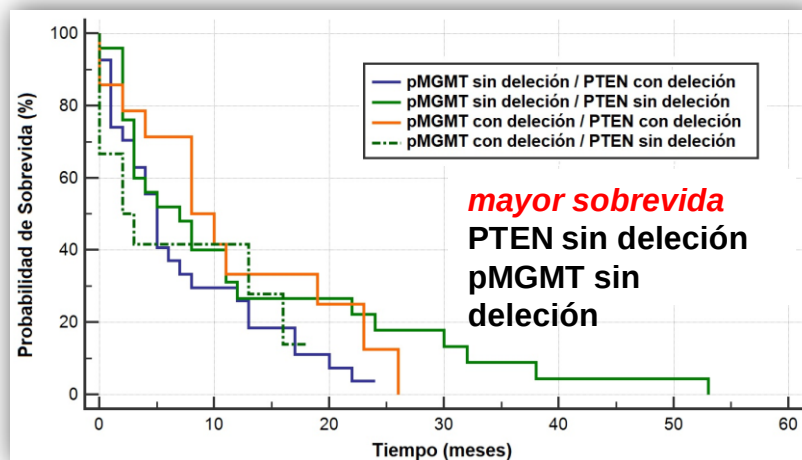
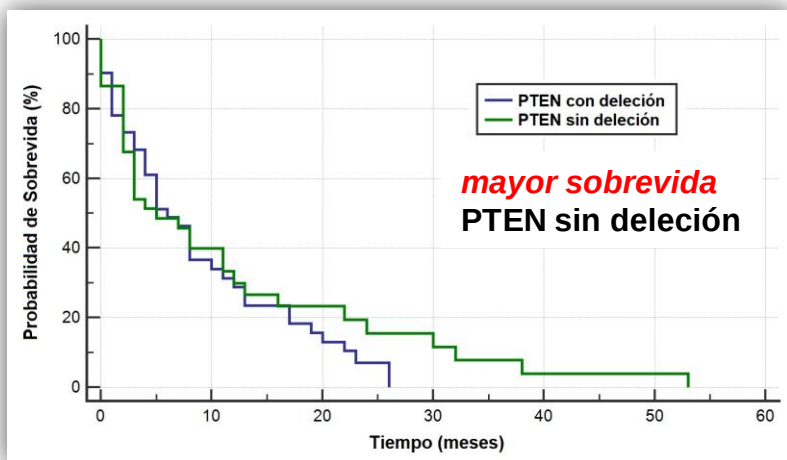
pMGMT metilado alto y con delección de pMGMT

pMGMT metilado bajo/medio y con/sin delección de pMGMT

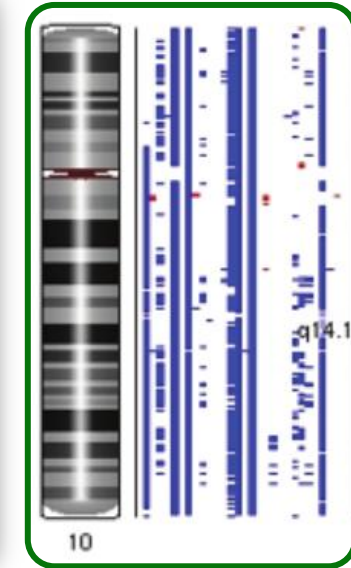
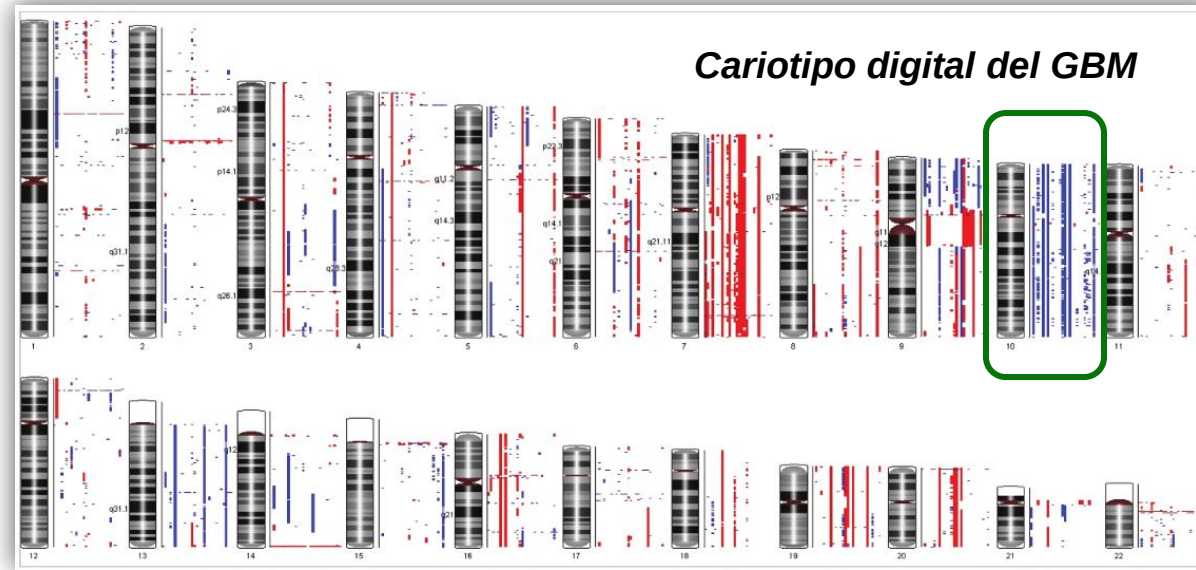
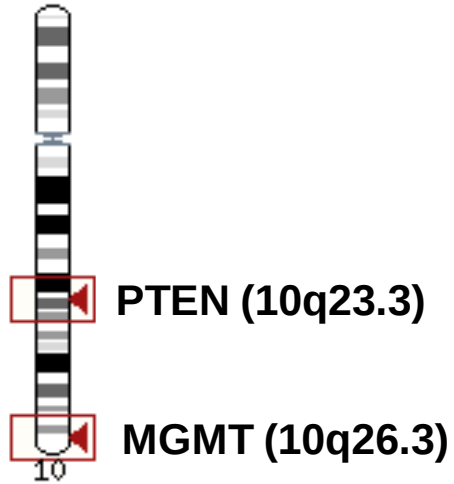
Patrones pérdida de heterocigosidad de PTEN en GBM

	M8961	Glio8	M7464	H15	Glio 16	Glio7	M7698	Glio 20	M7816	H35	G23	G30	G32	G33	G45	Glio2	H28	Glio10	G09	G18	G36	G37	G43	G44	G46	G49	Glio1	H01	H02	H10	H23	H26	H37	H47	H50	G22	Glio 18	H12	M7465	M7558
GENERO	M	M	F	M	M	M	M	F	M	M	M	F	M	F	M	M	F	M	M	M	M	M	F	F	F	F	F	M	M	F	F	F	M	M	F	M	M	M	F	M
Edad	55	25	47	39	59	38	67	57	52	69	72	55	49	48	72	72	46	61	60	62	51	60	68	80	53	63	44	57	67	56	58	40	48	55	64	71	50	54	40	56
DX integrado	GRADO																																							
GRADO	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV
metilación pMGMT (ratio)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,6	0,6	0,8	0	0	0	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
pMGMT DEL																																								
PTEN DEL																																								

	G10	G12	G40	G42	Glio12	H03	H19	G39	H05	H08	H13	H32	G11	G48	H16	H49	G31	H17	H40	H42	M7545	G21	G26	G47	Glio 14	Glio3	G01	G24	H43	G16	G29	G02	H38	Glio11	H25	G14	H36	H46	H44	M8376	G03	G15	G17	G05	G08
GENERO	M	F	M	M	F	F	F	M	M	M	F	F	M	M	M	M	F	M	F	F	M	F	M	M	F	M	F	F	F	M	F	M	F	M	F	F	M	M	F	M	M	M	M	F	
Edad		49	58	54	58	58	22	68	56	62	57	60	73	69	ns	52	74	55	61	47	52	57	78	58	38	67	62	74	41	57	52	61	55	83	49	54	59	62	55	64		80	60	53	77
DX integrado	GRADO																																												
GRADO	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	IV	
metilación pMGMT (ratio)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,7	0,7	0,7	0,7	0,8	0,9	0,9	1	1	1,1	1,1	1,2	1,6	3,5
pMGMT DEL																																													
PTEN DEL																																													

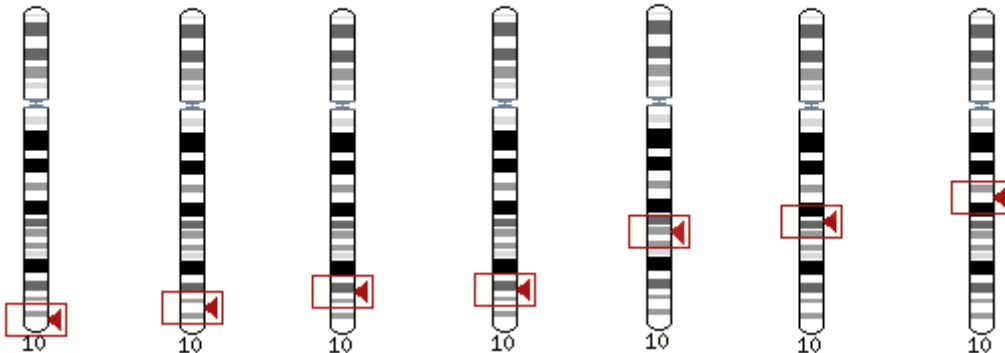


Cromosoma 10

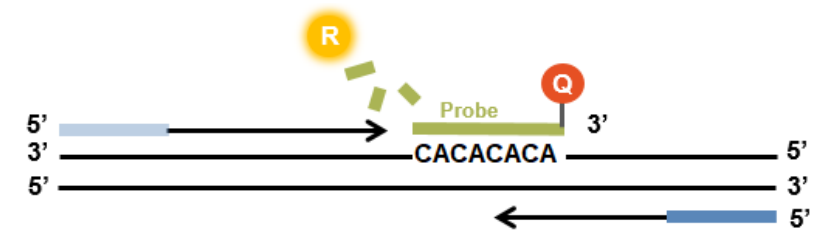


Análisis de microsatélites

D10S1655 D10S587 D10S531 D10S1683 D10S185 D10S1765 D10S206
10q26.3 10q26.1 10q25.1 10q25.3 10q23.33 10q23.31 10q22.1



Análisis cuantitativo de microsatélites en tiempo real (QuMA)



STR referencia: Cr 2, Cr 3 y Cr 5
Nº copias relativas x método de ddCt

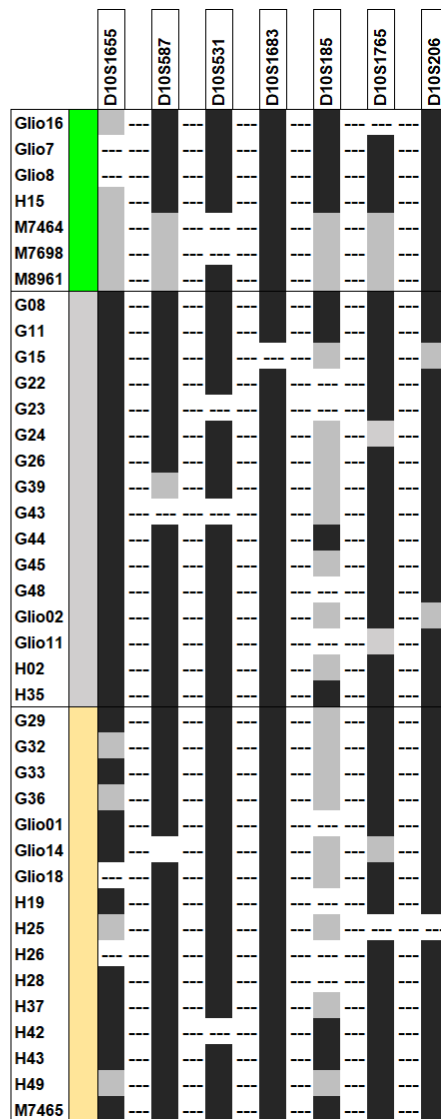
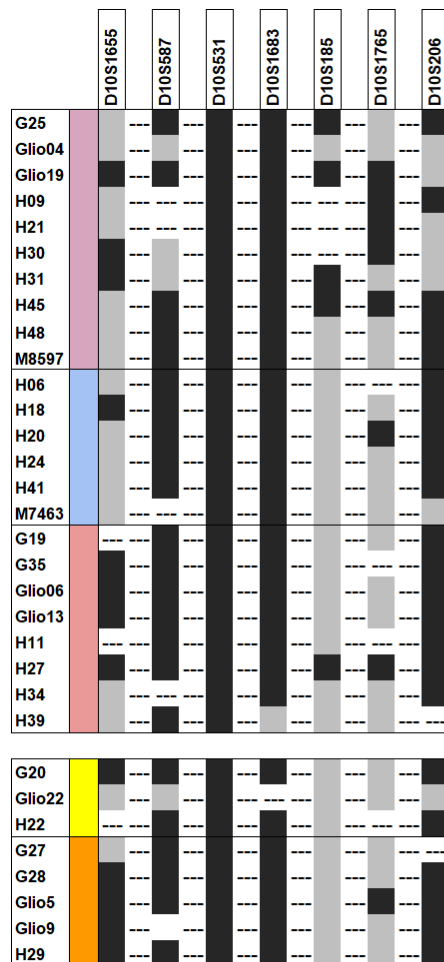
Pérdida de heterocigosidad de 10q

63 CASOS

24 Astrocitomas

8 Oligodendrogliomas

39 Glioblastomas



Se observó LOH en:

- ✓ D10S1655 (10q26.3) en GBM IDHwt (26/36) a diferencia de AS (8/24) y GBM IDHmut (0/7)
- ✓ D10S587 (10q26.1) en GBM (29/35) a diferencia de AS (7/24)
- ✓ D10S1765 (10q23.31) en GBM (31/39) a diferencia de AS (7/24) y OO (1/8).



Conclusiones

- 1. La cohorte estudiada presentó correlación con la incidencia de los subtipos tumorales en la población y, además, con la caracterización del grado histológico y la presencia de IDHmut en relación a la sobrevida.*
- 2. El enfoque integrado en el diagnóstico de gliomas revalidó la relación descrita entre los distintos subtipos tumorales y el patrón de alteraciones genómicas.*
- 3. La gradación del perfil de metilación de pMGMT no fue factor pronóstico de sobrevida en GBMwt. Por lo tanto, solo es de importancia evaluar presencia o ausencia de metilación.*
- 4. El estado de heterocigosidad del pMGMT fue un factor pronóstico independiente de mayor sobrevida en GBMwt.*
- 5. Se observó mayor sobrevida en GBMwt con pMGMT metilado y sin delección. El impacto del estado de heterocigosidad es mayor que el estado de metilación de pMGMT.*
- 6. El estado de heterocigosidad de PTEN fue un factor pronóstico independiente de mayor sobrevida en GBMwt.*
- 7. Se observó mayor sobrevida en GBMwt con pMGMT y PTEN sin delección. El impacto del estado de heterocigosidad de PTEN es mayor que el estado de metilación de pMGMT.*
- 8. La identificación del perfil de LOH en distintos locus del 10q permitió definir subtipos molecularmente homogéneos.*

Esta información podría ser relevante de los aspectos clínicos y biológicos de estas neoplasias.

GMED 6

ASOCIACIÓN DE LA PÉRDIDA DE HETEROCIGOSIDAD DEL 10Q CON EL ESTADO DE METILACIÓN DEL *PMGMT* EN GLIOMAS DE ADULTOS

Ruiz M.F.^{1,2}, G.R. Perez^{3,4}, M.V. Gennaro^{1,5}, L. Bastone³, A.R. Godoy¹, M. Torruella³. ¹Centro de Diagnóstico Patológico SRL (Grupo Gamma), Argentina; ²Facultad de Ciencias Médicas (UNR), Argentina; ³Gammalab (Grupo Gamma), Argentina; ⁴Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR), Argentina; ⁵Servicio de Anatomía Patológica (HECA), Argentina.
grperez@igamma.com

**SANTA
FE** Agencia Santafesina
de Ciencia, Tecnología
e Innovación

*Apoyo al desarrollo de soluciones
tecnológicas en empresas*



Gracias por su atención!!!!

Agradecimientos



Servicio de Anatomía Patológica
Dra María Verónica Gennaro



Servicio de Anatomía Patológica
Dra María Fernanda Ruiz
Dra María Verónica Gennaro
Dra Alicia R. Godoy

Gammalab
Dra Laura Bastone
Dra Mónica Torruella

Unidad Asistencial de Neuro-oncología
Dr Ignacio Barrenechea
Dr Héctor Rojas

