

## Asociación de la mutación IDH1 y el polimorfismo VEGF +936 con el grado histológico en gliomas

**Lucía Requejo García**

Medicina. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid  
[maia\\_lucispy@hotmail.com](mailto:maia_lucispy@hotmail.com)

**Gregorio Rodríguez Boto**

Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina  
[grodriguez.hcsc@salud.madrid.org](mailto:grodriguez.hcsc@salud.madrid.org)

**Resumen:** los gliomas son los segundos tumores en frecuencia en el Sistema Nervioso Central, por detrás de las metástasis. En los últimos años las investigaciones en este tipo de tumores se han dirigido a buscar nuevos marcadores moleculares que pudieran servir a un mejor diagnóstico y pronóstico, así como al desarrollo de nuevas dianas de tratamiento que permitieran obtener mejores resultados en términos de supervivencia y calidad de vida. En este sentido, los diferentes estudios encuentran asociaciones significativas con el polimorfismo +936 C/T del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) y la mutación del codón 132 (R132H) del gen IDH1. Especialmente esta última ha sido ampliamente estudiada, valorándose como un marcador precoz en el desarrollo de los gliomas y asociándose a un incremento de la supervivencia en los pacientes portadores. El análisis en profundidad de estos resultados nos permitirá obtener información que puede abrir nuevas vías para el control del crecimiento tumoral y el tratamiento de estos pacientes. Nuestro objetivo será estudiar si existe asociación entre estos dos marcadores y los tipos histológicos más frecuentes.

**Palabras clave:** glioma. Glioblastoma multiforme. IDH1. VEGF.

### INTRODUCCIÓN

Los gliomas cerebrales representan el 50% de los tumores primarios del Sistema Nervioso Central. Se clasifican en astrocitomas grado I a grado IV, en base a los criterios histopatológicos y clínicos establecidos por la OMS. Entre sus subtipos, los más frecuentes son los astrocitomas, oligodendrogliomas y ependimomas. Por su agresividad destaca el glioblastoma multiforme (GBM), un tumor infiltrante de forma difusa y que a pesar de los tratamientos actuales con cirugía, quimio y radioterapia tiene una supervivencia estimada entre los 12 a 16 meses <sup>(1)</sup>.

Hoy en día se sabe que la neovascularización y las alteraciones metabólicas de las células cancerosas conducen a su crecimiento y autorrenovación y por tanto, a la progresión tumoral por falta de control de las mismas <sup>(2)</sup>. Esto ha potenciado el estudio genético en los últimos años y la aparición nuevos marcadores moleculares que puedan aportar información diagnóstica y pronóstica. Entre ellos se encuentra el polimorfismo +936 C/T del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) asociado a la angiogénesis y la mutación en el codón 132 (R132H) del gen IDH1 relacionado con una mayor acumulación de 2-hidroxiacetilacetato.

Nuestro objetivo es estudiar si existe asociación entre la mutación IDH1 y el polimorfismo VEGF +936 C/T y los tipos histológicos más frecuentes en población adulta. En el caso de VEGF +936 C/T además se valorará el riesgo de glioma asociado a los genotipos mediante un estudio de casos y controles.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Sujetos de estudio

Se parte de una población de 89 pacientes con tumores cerebrales intervenidos quirúrgicamente en el servicio de Neurocirugía del Hospital Clínico San Carlos de Madrid entre los años 2005 y 2012. Los tipos tumorales fueron: 35 glioblastomas multiformes, 7 astrocitomas anaplásicos, 5 astrocitomas grado 2; 3 astrocitomas grado 1; 6 tumores oligodendrogiales, 2 ependimomas, 18 meningiomas y 13 entre metástasis y otros tumores. En todos los pacientes y controles se solicitó el consentimiento, según modelo aprobado por el Comité de Ética del Hospital.

### Variables

Las variables de estudio fueron: género, edad, fecha de nacimiento, fecha de diagnóstico e ingreso, localización, datos de RM/TC, fecha de la cirugía, complicaciones de la cirugía, grado de resección, histología del tumor, tratamiento radioquimioterápico, seguimiento clínico-radiológico hasta el fallecimiento o pérdida de contacto, genotipo en casos y controles, frecuencia de los alelos C y T en el gen VEGF y de las mutaciones en el codon 132 (R132H) del gen IDH1. Se recoge además el estado general del paciente, medido mediante el Karnofsky Performance Status.

### Análisis de mutaciones

Tanto el DNA de sangre periférica como el de tejido tumoral fueron extraídos empleando el kit DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN).

La detección del polimorfismo VEGF +936 C/T se realizó mediante PCR a tiempo real con sondas TaqMan MGB probe. Las secuencias de los primers forward y reverse y dos probes para los tres polimorfismos se encuentran en la tabla 1 <sup>(3)</sup>.

936 C/T Primer FWD	5'-ACT CCG GCG GAA GCA TTC-3'
Primer REV	5'-AGC AAG AAA AAT AAA ATG GCG AAT CCA-3'
WT C Probe	5'-FAM-CAA GAG GGA CCG TGC TG-MGB-NFQ-3'
Var T Probe	5'-TET-AAG AGG GAC CAT GCT G-MGB-NFQ-3'

**Tabla 1. Aecuencias de los polimorfismos del VEGF.**

En el caso de la mutación del gen IDH1 se analizó mediante PCR-RFLP usando la enzima de restricción Hsp92II (Promega). La digestión se hizo en un volumen total de 20  $\mu$ l durante 4 horas; los productos digeridos se sometieron a electroforesis en gel de poliacrilamida al 8%. La amplificación del exón 4 del gen IDH1 se basa en la secuencia de primers que se especifica en la tabla 2 <sup>(4)</sup>.

Primer FWR (forward)	5'- GGA TGC TGC AGA AGC TAT AA - 3'
Primer REV (reverse)	5' - CAT GCA AAA TCA CAT TAT TGCC - 3'

**Tabla 2. Secuencias de mutación del IDH1.**

### Método estadístico

El análisis estadístico fue realizado con el programa SPSS versión 17.0 empleando el test de  $\chi^2$ , la prueba exacta de Fisher, el cálculo de Odds Ratio y su intervalo de confianza del 95%.

## RESULTADOS

La mutación IDH1 fue detectada en heterocigosis en el 13.5% de los tumores analizados. La frecuencia de los genotipos CC, CT, y TT del polimorfismo VEGF +936 C/T fue 77.5%, 19.1% y 3.1% respectivamente.

Al estratificar los tipos histológicos en astrocitomas 1, 2, 3; glioblastomas, meningiomas, tumores oligodendrogiales y otros gliomas se encontró que la asociación era significativa tanto con la mutación IDH1 ( $p < 0.001$ ), como con el polimorfismo VEGF +936 C/T ( $p = 0.034$ ), siendo la mutación IDH1 más frecuente en el grupo de los astrocitomas y los genotipos CT y TT de VEGF en los oligodendrogiales.

Al comparar la frecuencia de los genotipos de VEGF +936 C/T entre el grupo de casos y controles se encontró que no existían diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0.620$ ) y que por lo tanto no hay asociación entre el polimorfismo de VEGF y el riesgo de glioma (OR=0.853, 95% IC= 0.455-1.599).

## DISCUSIÓN

La implicación de los genes IDH1 y VEGF en el desarrollo y progresión de los diversos tipos de cáncer como la leucemia y los gliomas está siendo puesta en evidencia <sup>(5)</sup>. El estudio genómico de 22.663 genes codificantes de proteínas en 22 muestras de tumores humanos permitió demostrar mutaciones recurrentes de IDH1 en el 12% de los GBM <sup>(6)</sup>, siendo más frecuentes en pacientes jóvenes y en GBM secundarios (aquellos que progresan desde gliomas de bajo grado).

Un estudio de 1010 gliomas encuentra que en 716 casos se detectan mutaciones en IDH1 y 31 en IDH2 <sup>(7)</sup>. En los astrocitomas difusos grado II la mutación se encuentra en el 72.7%, mientras en los astrocitomas anaplásicos grado III alcanza el 64%. En cuanto a los oligodendrogliomas grado II es del 82% y en un 69% en los grado III. Los oligoastrocitomas grado II tienen un 66% de mutaciones, igual que los grado III.

La angiogénesis patológica es un pilar crucial del cáncer. VEGF es la proteína clave en la regulación del fenotipo hipervasculoso de los tumores cerebrales primarios malignos. El hallazgo de un biomarcador en sangre que nos pueda ayudar en el diagnóstico precoz de un tumor cerebral al ser medido al comienzo del tratamiento, permitiría aplicar una terapia personalizada como la antiangiogénica y así mejorar el pronóstico de un tumor con escasa supervivencia <sup>(8)</sup>. Estudiando en el VEGF el polimorfismo del gen +936 C/T, hay trabajos que reflejan una mayor prevalencia del genotipo T/T en los pacientes con glioblastoma en comparación con los portadores de un glioma de bajo grado y que éste es un factor de riesgo en la población estudiada <sup>(9)</sup>.

## CONCLUSIÓN

Nuestros resultados sugieren que el análisis de la mutación IDH1 y del polimorfismo VEGF puede ser útil en el diagnóstico histológico de este tipo de tumores. En nuestra población la mutación IDH1 presenta una importante asociación con el grupo histológico de astrocitomas 1, 2, y 3; mientras que los genotipos CT y TT de VEGF son más frecuentes en tumores oligodendrogliales. Respecto a la utilidad del polimorfismo en relación al riesgo de glioma no se ha encontrado asociación estadísticamente significativa.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WD, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2007 Aug;114(2):97-109.

2. Price SJ, Burnet NG, Donovan T, Green HA, Peña A, Antoun NM, et al. Diffusion tensor imaging of brain tumors at 3T: a potential tool for assessing white matter tract invasion? *Clinical Radiology* 2003 Jun;58(6):455-62.
3. Schneider BP, Radovich M, Sledge GW, Robarge JD, Li L, Storniolo AM, et al. Association of polymorphisms of angiogenesis genes with breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2008 Sep;111(1):157-63.
4. Rocquain J, Carbuccia N, Trouplin V, Raynaud S, Murati A, Nezri M, et al. Combined mutations of ASXL1, CBL, FLT3, IDH1, IDH2, JAK2, KRAS, NPM1, NRAS, RUNX1, TET2 and WT1 genes in myelodysplastic syndromes and acute myeloid leucemias. *BMC Cancer* 2010 Aug;10:401-8.
5. Prensner JR, Chinnaiyan AM. Metabolism unhinged: IDH mutations in cancer. *Nature Med.* 2011 Mar;17(3):291-3.
6. Parsons DW, Jones S, Zhang X, Lin JC, Leary RJ, Angenendt P, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme. *Science* 2008 Sep;321(5897):1807-12.
7. 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 differentiation and age: a study of 1.010 diffuse gliomas. *Acta Neuropathol.* 2009 Oct;118 (4):469-74.
8. Jain RK, Duda DG, Willett CG, Sahani DV, Zhu AX, Loeffler JS, et al. Biomarkers of response and resistance to angiogenic therapy. *Nature Rev Clin Oncol.* 2009 Jun;6(6):327-38.
9. Bao G, Wang M, Guo S, Han Y, Xu G. Vascular endothelial growth factor+936 C/T gene polymorphism and glioma risk in a Chinese Han population. *Genet. Test. Mol. Biomarkers,* 2011 Jan-Feb;15(1-2):103-6.

#### **BIBLIOGRAFÍA DE CONSULTA**

- Juratli TA, Kirsch M, Robel K, Soucek S, Geiger K, et al. IDH mutations as an early and consistent marker in low-grade astrocytomas WHO grade II and their consecutive secondary high-grade gliomas. *J Neurooncol.* 2012 Jul;108(3):403-10
- Quon H, Hasbini A. Assessment of tumor angiogenesis as a prognostic factor of survival in patients with oligodendroglioma. *J Neurooncol.* 2010 Jan;96(2):277-85.

Recibido: 7 noviembre 2013.

Aceptado: 24 febrero 2014.