



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION
FACULTAD DE MEDICINA**

SERVICIO DE NEUROLOGIA Y NEUROCIRUGIA

HOSPITAL GENERAL DE MEXICO, O.D.

“DR. EDUARDO LICEAGA”

**“IDENTIFICACION POR MEDIO DE RT-PCR DE LA VIA
MOLECULAR RELACIONADA A GAS1 Y SHH EN
GLIOBLASTOMAS; UNA NUEVA POSIBILIDAD TERAPEUTICA
MOLECULAR”**

TESIS DE POSGRADO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO ESPECIALISTA

EN

NEUROCIRUGIA

PRESENTA:

DR. RODRIGO NAVARRO-RAMIREZ

TUTOR DE TESIS:

DR. JOSE DAMIAN CARRILLO RUIZ



**HOSPITAL
GENERAL
de MÉXICO**

MÉXICO, D.F.

JULIO 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**DR. JOSE FRANCISCO GONZALEZ MARTINEZ
DIRECTOR DE ENSEÑANZA
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO**

**DRA. MARIA DEL CARMEN CEDILLO PEREZ
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO**

**DR. JOSE DE JESUS GUTIERREZ CABRERA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION EN NEUROCIRUGIA
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO**

**DR. JOSE DAMIAN CARRILLO RUIZ
TUTOR DE TESIS
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO**

**DR. NOE VARGAS TENTORI
JEFE DEL SERVICIO DE NEUROLOGIA Y NEUROCIRUGIA
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO**

AGRADECIMIENTOS

A mi esposa: Elizabeth y mi hijo Mateo

Por ser mi motor, mi objetivo en la vida, la razón por la cual levantarse cansado, trabajar, proveer y vivir una vida ejemplar.

A mis padres: Rogelio, Elia, Roberto y Aracely.

A mis hermanos: Rogelio, Syd y Emmanuel.

A mi familia: Lourdes, Manuel, Estefy y Rafa.

Por estar ahí y por darme fuerza, esa fuerza indescriptible que en tiempos de hambre dan saciedad, en tiempo de frío dan calor, pero sobretodo en tiempos de angustia y ansiedad dan PAZ y CORDURA para mantener el ritmo y la trayectoria.

A mi hospital sede. El honorable y siempre grande Hospital General de Mexico. Quien me dio casa y educación desde mi INTERNADO-CIRUGIA GENERAL-NEUROCIRUGIA POR 7 largos AÑOS y que me ha educado para ser lo que soy y motivarme a ser el mejor.

A mis compañeros de residencia por enseñarme gracias a sus virtudes y defectos ha planear mi vida y mantener el curso fijo.

A toda la plantilla de PROFESORES del HGM de quienes tome todo lo bueno e hicieron de mi lo que soy. En especial al Dr. Lorenzo, Dr. Ramos, Dr. Carrillo, Dr. Soto, Dr. Gutiérrez Cabrera, Dr. Noé Vargas.

A mis colaboradores Paula, Rubén, Leticia, Nata y maestro Pepe Segovia.

A mis amigos:

Benito, Renato, Legaspi, Gustavo, Alvaro, Hector, Daruni: Por ser maestros y amigos a la vez.

Cesar e Ivan: Por estar ahí desde antes de iniciar mi residencia siempre presentes, incondicionales y desinteresados mostrando el lado de la amistad verdadera.

Edgardo, Laura, Gerardo y Carlos: Por compartir sus experiencias y apoyarme con su confianza.

A mis dos grandes MENTORES:

Dr. Roberto de Leo Vargas: Por compartir su conocimiento en medicina y neurocirugía, su experiencia y vida de manera tan modesta y honesta. Evidentemente dejándome principios que buscare aplicar a mi propia practica y vida.

Dr. Alfredo Quiñones Hinojosa: Por ser mi maestro, mentor, figura y amigo. Por dejarme convivir con el, aprender y apreciar que las personas superdotadas siempre son sensibles, amables, honestas y altamente productivas. Sin barreras de tiempo o cansancio.

A mi “Maestro”: Dr. Max Téllez por abrirme los ojos en etapas tempranas de mi formación el mundo real y de una manera ejemplar compartir sus conocimientos y vida; y dejarme compartir con el, éxitos personales y académicos.

A mi “Shepard y Amigo”: Dr. Eduardo Galván, Por compartir sus enseñanzas, experiencias de vida y reconfortarme en esos innumerables momentos de flaqueza y de confusión. Por enseñarme con su ejemplo cual es el camino a seguir, que las piedras seguirán y como permanecer fuerte.

Al Gran Profesor: Dr. Jose Damian Carrillo Ruiz; por creer en mi, por mantenerse a mi lado durante mi residencia y siempre apoyando mis proyectos e impulsándolos a rebasar fronteras y enseñarme que el esfuerzo diario es un estilo de vida y que no existe logro académico imposible.

“Y finalmente, agradezco a la vida tanto detractor y obstáculo, tanta piedra”

Autor de “Los libros enseñan, deberían de estar viendo que publican”

ÍNDICE

	Página
Agradecimientos	3
Índice	6
Resumen	7
Introducción	9
Ciclo celular	10
Gas1	11
Astrocitomas de Alto Grado y Glioblastomas	14
Hipótesis y Objetivo	17
Metodología	18
Resultados	22
Discusión	25
Conclusión	28
Referencias	29
Anexo	33

1. Resumen:

Los glioblastomas (GBMs) de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) son astrocitomas de alto grado de origen glial astrocítico y constituyen una de las patologías del SNC más comunes y con el peor pronóstico para la vida, ocasionan la muerte en más de la mitad de los pacientes diagnosticados en menos de 14 meses, independientemente de la conducta terapéutica radioterapéutica, quirúrgica o quimioterapéutica. Durante las últimas dos décadas se ha progresado en el análisis biomolecular de las neoplasias que afectan al sistema nervioso central con el objetivo de buscar nuevas alternativas terapéuticas.

Hoy en día los glioblastomas permanecen refractarios a terapias convencionales. La neuro-oncología molecular ha esclarecido parcialmente el fenotipo de los glioblastomas identificando vías oncogénicas que pudieran ser susceptibles de tratamiento molecular (Tandon, et al.2009). Las vías de señalización mediadas por factores de crecimiento están alteradas y contribuyen a la oncogénesis por vía autocrina y/o paracrina. Algunas de las vías de señalización afectadas en los glioblastomas que han sido descritas son la vía de Cinasa de Fosfatidilinositol-3 del ingles *Phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K), Cinasa de Serina/Treonina (AKT), Cinasa de Serina/Treonina Fosforilada (pAKT), Sonic Hedgehog (SHH) y Factor Neurotrófico Derivado de la Glía del ingles *Glial Derived Neurotrophic Factor* (GDNF) (Tandon, et al.2009).

El gen *gas1* carece de intrones, lo cual sugiere que se originó por un retrotransposon. Codifica para una proteína de 345 aa y 37 kDa que se encuentra unida a glicosil fosfatidil inositol y que posee una gran homología estructural con la familia de receptores de GDNF(Schueler-Furman et al.,2006).

Hasta donde se conoce la expresión de Gas1 y de las proteínas relacionadas con la vía de señalización de GDNF no han sido descritas en glioblastomas sin procesamiento de laboratorio. Lo mas cercano a esto ha sido el estudio de cultivos primarios obtenidos de astrocitomas de alto grado, donde se ha

demostrado la ausencia de Gas1 y la presencia de las moléculas que forman parte de la vía de señalización de GDNF. Es a través de esta vía y de la sobreexpresión de Gas1 que se puede inducir apoptosis en cultivos primarios de gliomas de alto grado (Dominguez-Monzon et al., 2009).

Recientemente se ha asociado de manera cuantitativa la disminución en la expresión de Gas1 con el acortamiento de los periodos libres de enfermedad en la recurrencia de cáncer de colon (Jiang et al . 2011). También se han descrito alteraciones en el gen *gas1* en pacientes con holoprosencefalia, así como del morfogene relacionado a la señalización de Gas1 – SHH (Ribeiro et al., 2010).

Por último, los hallazgos de nuestro laboratorio han indicado que la sobreexpresión de Gas1 en células tumorales in vitro e implantadas en ratones induce arresto celular y apoptosis (Benítez et al., 2007). Además de que es posible incrementar el campo de acción de Gas1 al generar vectores que codifiquen para una forma soluble de esta proteína (López- Ornelas et al., 2011).

Por lo anterior se justifica el estudio de la presencia de Gas1 en glioblastomas multiformes en el momento post-quirúrgico inmediato para aplicar los conocimientos sobre Gas1 y la vía de señalización de GDNF al proceso natural de la enfermedad y así diseñar una estrategia terapéutica real y no solo paliativa contra estos tumores.

2. Introducción:

2.1 Ciclo celular

Los seres humanos son organismos multicelulares, cuyas células mantienen un ciclo que tiene como objeto perpetuar las características celulares. Este proceso es altamente regulado en metazoos y se compone de 4 fases principales: G₁, S, G₂, M (mitosis). La mitosis, se divide a su vez en 4 etapas profase, metafase, anafase y telofase, que culminará con la formación de una nueva célula.

Adicionalmente las células en forma fisiológica o patológica pueden entrar en una fase G₀ cuando carecen de nutrientes o cuando el tejido ha alcanzado su diferenciación y tamaño final (**fig. 1**)

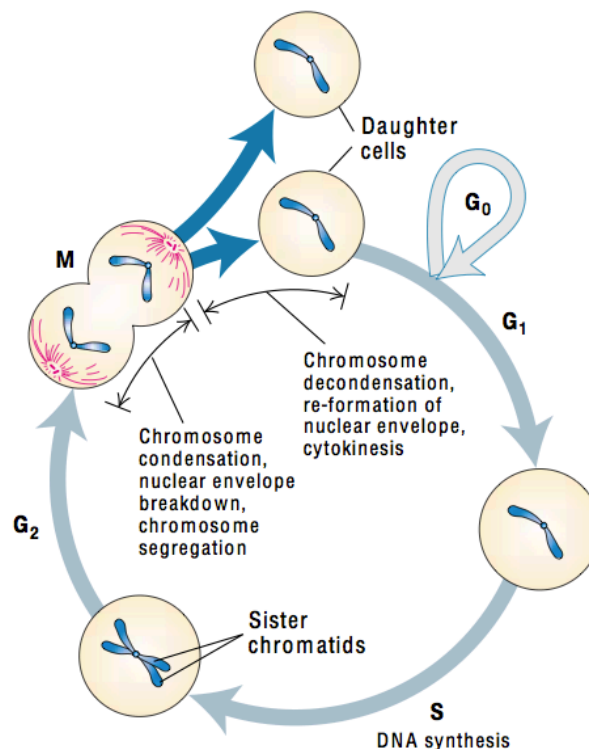


Figura 1 Fases del ciclo celular. Molecular Cell Biology (Lodish,) W. H. Freeman; 6th edition (June 15, 2007)

2.2 Growth arrest specific 1 (Gas1)

El gen *gas 1* (growth-arrest specific 1) fue aislado de la línea celular NIH3T3 en condiciones de privación de suero (Schneider et al., 1988). Este gen carece de intrones y contiene un solo exón. Está localizado en el cromosoma 9q21.3-22.1 (Del Sal et al., 1994; Evodokiou et al., 1993). Codifica a una proteína de 345 aminoácidos que pesa aproximadamente 37 kDa, se encuentra unida por glicosilfosfatidilinositol (GPI) a la membrana celular (Stebel et al., 2000). Conserva homología estructural con los receptores α de la familia de ligandos de GDNF ($GFR\alpha$) la cual es de aproximadamente un 25% y comprende alrededor de 120-150 aminoácidos (Shueler-Furman et al., 2006).

Por otro lado se conoce que SHH y Gas1 se relacionan con el desarrollo embrionario de los pliegues interdigitales (Lee et al., 2001) y se ha estudiado su presencia de manera cooperativa en la perfección de las características fenotípicas de los ratones maduros (Allen et al., 2007; Martinelli y Fan, 2007).

La señalización por medio de la vía SHH-Gli se ha relacionado al desarrollo del sistema nervioso y con la presencia y progresión de tumores en este mismo sistema (Ruiz et al., 2004). Además se ha descrito el efecto de Gas1 en el desarrollo de las estructuras de la línea media del sistema nervioso y las anomalías en el gen *gas1* en pacientes con holoprosencefalia (Gupta et al., 2011).

En nuestro laboratorio se han logrado expresar formas solubles de Gas1, la cual puede actuar de manera paracrina y autocrina induciendo alteración de la vía de señalización de GDNF, que impide la auto fosforilación del receptor de tirosina cinasa (Ret) inhibiendo la activación del residuo de tirosina 1062 reduciendo la activación de AKT. Por lo que al reducir la activación de AKT las células son llevadas a arresto celular y apoptosis mediada por la actividad de la caspasa 3 (Zarco., et al 2012; López-Ramírez et al., 2008).

2.3 Gas1 y otras entidades clínicas.

Gas 1 y cáncer colo-rectal

Niveles bajos en la expresión de *gas1* de pacientes con cáncer colorectal han sido asociados a mayor recidiva y periodos más cortos libres de la enfermedad independientemente del grado de estadificación clínica, sexo, edad e infiltración linfovascular o peri neural al momento del diagnóstico (Jiang et al ., 2011).

Gas 1 y melanoma

El melanoma es un tipo de cáncer de piel que se manifiesta en los pacientes caucásicos en edad productiva preferentemente. Es considerado un problema de salud pública en especial en los países en los que la población es de piel clara por que este tipo de cáncer de piel es altamente agresivo y metastásico (Linja et al ., 2009).

Se ha observado que cuando *gas1* se expresa en la línea celular de melanoma B16-F0 y estas células se inyectan en ratones. *Gas1* induce apoptosis y reduce la capacidad del melanoma para generar metástasis (Linja et al ., 2009).

Gas 1 y holoprosencefalia

La holoprosencefalia es una enfermedad que se caracteriza por presentarse como un conjunto de anomalías del desarrollo de las estructuras de la línea media del cráneo y el cerebro. Se han descrito anomalías en *gas1* en personas que presentan esta patología (Gupta et al., 2011).

2.4 Mecanismos moleculares de acción de Gas1

Gas1 y p53

Anteriormente se había propuesto la necesidad de la presencia de *p53* para que *gas1* ejerciera su efecto. Sin embargo, actualmente se conoce que Gas1 es capaz de inducir apoptosis en tejido que expresa Gas1 y no p53 (Benítez et al, 2007).

Gas1 y GDNF

Gas1 induce apoptosis debido a que inhibe la cascada de señalización intracelular de GDNF (López-Ramírez, 2008). GDNF forma parte de los ligandos de la familia de GDNF (GFLs) (Hätinen et al., 2007), que incluyen al propio GDNF, neutrina (NRTN), artemina (ARTN) y persefina (PSPN).

Cuando GDNF se une a su respectivo receptor $GFR\alpha 1$, la interacción de estos receptores con Ret activa señales tales como: AKT, la cual actúa como una molécula que promueve la supervivencia, debido a que regula de manera negativa diversas proteínas involucradas en la apoptosis, tales como Bad y la procaspasa-9.

Recientemente en nuestro laboratorio se demostró que las células SH-SY5Y, derivadas de neuroblastoma humano, expresan Gas1 cuando son privadas de suero y esta proteína inhibe de manera significativa la fosforilación del residuo Y1062 del receptor Ret reduciendo la activación de AKT (López-Ramírez et al., 2008). Por lo tanto proponemos que Gas1 actúa como modulador negativo de la señalización mediada por GDNF y que sus efectos pro apoptóticos en gliomas son debidos a que estos tumores dependen de esta vía para su proliferación (**fig. 2**) (Wiesenhofer et al., 2000).

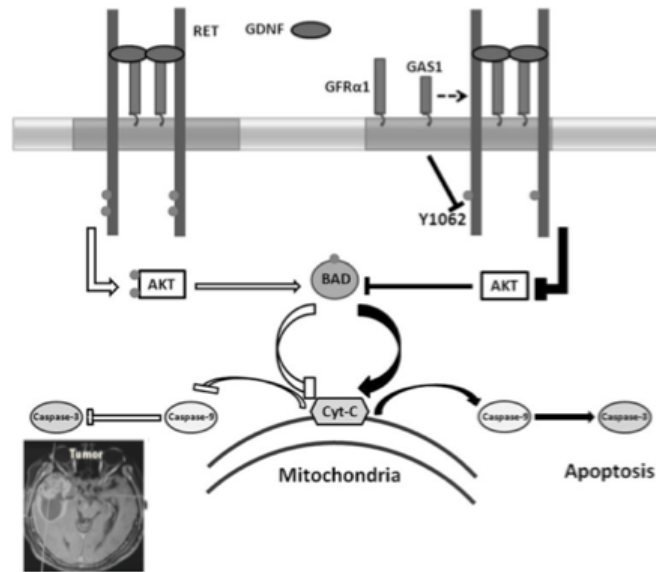


Figura 2. Modificada de Zarco et al., 2012. Vía de señalización de GDNF y el efecto propuesto de Gas1 sobre RET.

2.5 Gas y Sonic Hedgehog (SHH)

SHH es una proteína morfogénica relacionada al desarrollo del sistema nervioso central en los humanos y ejerce su efecto a través una serie de proteínas membranales (Cohen, 2009). La primera de esas proteínas es Patched (Ptch) que se encuentra de forma constitutiva inhibiendo a Smoothened (Smo). Cuando SHH interactúa con Ptch retiran la inhibición a Smo permitiéndole ejercer un efecto de activación de la proteína G la cual estimula al factor de transcripción Gli actuando a nivel nuclear. Gas1 es capaz de ejercer un efecto potenciador de SHH generando una respuesta a nivel nuclear de una forma aún no del todo clara. (**fig. 3**) (Cohen et al., 2009) .

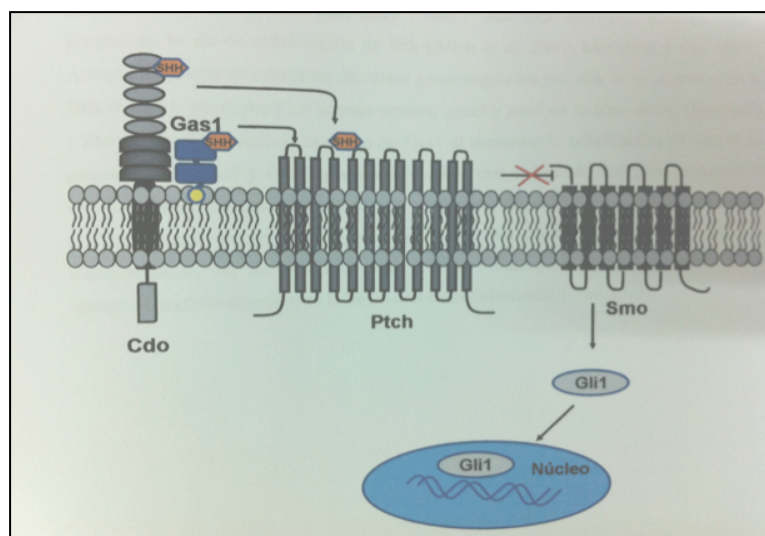


Figura 3 Modificada de Domínguez-Monzón et al., 2009. Vía de señalización de SHH y la posible interacción de Gas1.

3. Los astrocitomas de alto grado:

Los astrocitomas de alto grado son considerados la neoplasia primaria intracraneal más común e incluyen a los astrocitomas anaplasicos, el gliosarcoma, el oligodendroglioma anaplasico y el glioblastoma. A estos últimos tumores del sistema nervioso central (SNC) también se les llama glioblastomas multiformes (GBMs) (OMS, 2007) y resultan ser la lesión maligna primaria mas común del SNC.

Se desarrollan a partir de tejido glial de novo en el 90% de los casos o como lesiones previas en el 10% de los casos. Representan del 12 al 15% de las neoplasias intracraneales y el 60 a 75% de los tumores de origen glial astrocítico. Se pueden manifestar a cualquier edad con un pico de incidencia entre los 45 y los 75 años de edad y con una escasa preferencia de 1.26 hombres por cada mujer afectada (OMS, 2007).

Se localizan más frecuentemente en las regiones cortico subcorticales infiltrando la sustancia blanca con preferencia por los lóbulos parietales, temporales y frontales. Sin embargo se han descrito GBMs en todas las regiones anatómicas del SNC.

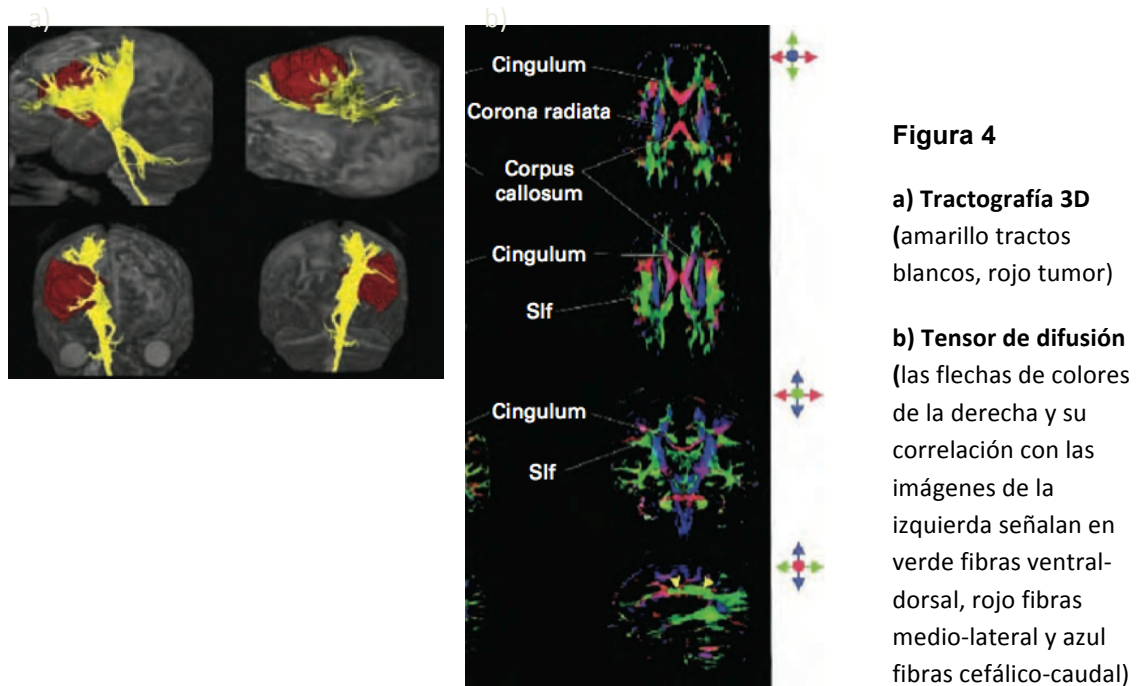


Figura 4

a) Tractografía 3D
(amarillo tractos blancos, rojo tumor)

b) Tensor de difusión
(las flechas de colores de la derecha y su correlación con las imágenes de la izquierda señalan en verde fibras ventral-dorsal, rojo fibras medio-lateral y azul fibras cefálico-caudal)

(Jonathan G. Clinical MR Neuroimaging: Cambridge University Press, 2005.)

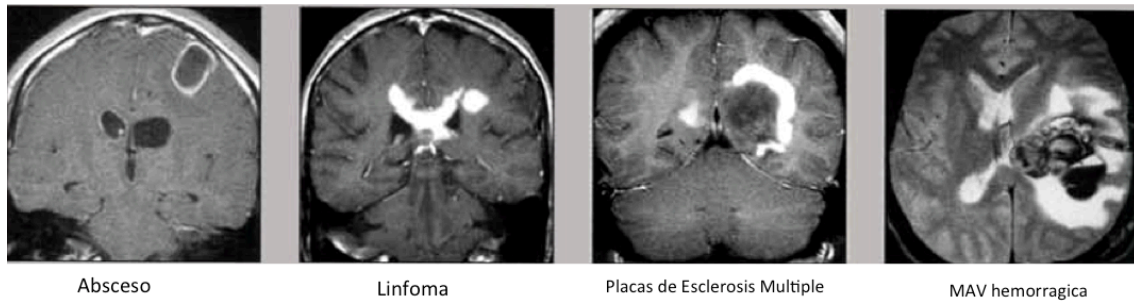
La tecnología de imagen disponible hoy en día permite realizar estudios como la tractografía y el tensor de difusión para evaluar la extensión de los glioblastomas a la sustancia blanca y a las estructuras grises mas importantes del encéfalo para una óptima planeación de la cirugía en caso necesario (**fig. 4**).

Estudios preoperatorios:

Los estudios preoperatorios incluyen RM con gadolinio, espectroscopia y la realización de prueba invasiva de WADA (amobarbital intracarotideo) y RM BOLD (blood oxygen level-dependent MRI).

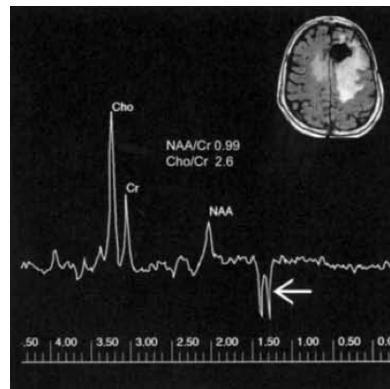
El patrón imagenológico clásico de un glioblastoma es una lesión mal definida, altamente infiltrativa rodeada de edema digitiforme en T2 y una lesión bien limitada altamente infiltrativa con refuerzo en forma de anillo en secuencia T1 con contraste y sus diagnósticos diferenciales imagenológicamente hablando son: El Absceso, el linfoma, las placas de esclerosis múltiple o una MAV hemorrágica Figura 5 (Osborn, 2004).

Fig 5



La espectroscopia por lo general muestra una relación N-Acetyl Aspartato- Creatina menor a 1 y una relación Colina – creatina mayor a 2.0. Lo que se traduce como alto índice de proliferación y bajo índice de población neuronal Figura 6.

Fig 6



Tratamiento:

El tratamiento mas aceptado actualmente de los glioblastomas multiformes es la resección quirúrgica aunque, a pesar de la ayuda del microscopio y técnicas microquirúrgicas; para fines oncológicos siempre se ha considerado a la cirugía un tratamiento limitado ya que permanecen remanentes celulares en el transoperatorio que favorecen la recidiva tumoral y sólo ofrecen una expectativa de vida de 7.8 meses

en casos de GBM secundarios y de 4.7 meses para pacientes con GBM primarios o de novo. En algunos casos la radio y quimioterapia combinada (Radioterapia-Temozolamida) ofrecen una supervivencia del 10% a 5 años *versus* 2% para aquellos que solo reciben radioterapia.

Algunas otras técnicas que han sido descritas para el tratamiento de los glioblastomas incluyen: Resección apoyada de resonancia magnética transoperatoria, mapeo cortical de áreas primarias, craneotomías y resecciones con paciente despierto. Todo lo anterior debido a que según lo publicado por McGirt MJ en 2009; la edad, la escala de Karnofsky mayor a 70, y el grado de resección total o subtotal, además del uso de polímeros de carmustina (Gliadel) o Temozolamida han sido las únicas terapias capaces de demostrar un aumento en la supervivencia de los pacientes sometidos a resecciones de gliomas. Y aun así en el 98% de los casos supervivencia NO fue mayor a 24 meses **Tabla 1.**

Tabla 1 Variables Asociadas a Supervivencia en el tratamiento de GBMs. (Modificado de McGirt MJ et al., 2009)

Edad menor a 60 años
Karnofsky mayor a 70
Resección Total (No se identifica realce en anillo post resección)
Resección Casi Total (Realce en anillo remanente en RM post operatoria)
Temozolamida + Cirugía +Radioterapia
Gliadel (Polimero de Carmustina)

Rol de las onco-esferas o células troncales tumorales en el tratamiento de los Glioblastomas:

Actualmente existe evidencia suficiente para saber que en el sistema nervioso adulto hay células troncales capaces de auto renovarse. De la misma forma existen células troncales tumorales a las cuales se les llama oncoesferas o células troncales tumorales. Los glioblastomas cuentan con células troncales en baja cantidad pero capaces de auto reconstituirse y liberar Factor de Crecimiento Vascular Endotelial

(VEGF) (Sanai et al., 2005) perpetuando su supervivencia a pesar de las terapias quirúrgicas o quimioterapéuticas.

Importancia de la migración tumoral en la falla del tratamiento actual:

Al momento de la necropsia el 45% de los casos de glioblastomas se extiende mas allá de 1 lóbulo cerebral, 25% involucra un hemisferio entero y del 25 al 30% cruza al hemisferio opuesto.

El 60% de los GBMs localizados lateralmente en el parénquima cerebral presentan también extensión antero-posterior y el 20% invade estructuras profundas (sustancia blanca).

En lesiones no tratadas las células tumorales pueden observarse a 3cm de distancia del centro necrótico del tumor y en los casos de recurrencias el 80% de los glioblastomas se extiende al hemisferio contralateral.

La diseminación de las células tumorales se ha descrito a lo largo de tractos de mielina (59%), sustancia blanca, perivascular, peri neural, peri fascicular, leptomenigeo (16%), a través del liquido cefaloraquideo y la matriz extracelular (6%).

Es por eso también que a pesar de una resección total (sin evidencia de realce tumoral postquirurgico) es factible identificar recurrencias distantes con el paso del tiempo.

Actualmente la terapia molecular es el blanco de estudio oncológico. Nosotros consideramos que Gas1 no se expresa en glioblastomas multiformes y que las moléculas involucradas en su vía de señalización descritas previamente en nuestro laboratorio en estudios *in vitro* pueden ser una opción para el desarrollo de nuevas formas de terapia molecular (Stupp et al., 2005).

4. Hipótesis:

Gas1 no se expresa en glioblastomas, pero GDNF y las moléculas de su vía de señalización previamente descritas en estudios de cultivos primarios de gliomas también se encuentran presentes en glioblastomas sin procesamiento de laboratorio previo.

5. Objetivos:

General

Determinar la expresión de Gas1, así como las moléculas asociadas a la vía de señalización intracelular de GDNF en glioblastomas humanos recién resecados quirúrgicamente.

Específicos

- Identificación radiológica de probables glioblastomas multiformes en pacientes que clínicamente manifiestan neoplasias intracraneales.
- Caracterización post quirúrgica histopatológica de los tumores resecados.
- Determinar la expresión de Gas1 GDNF, GFR α 1, Ret, SHH en glioblastomas humanos por medio de reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) e identificar la presencia de AKT y p-AKT por medio de inmunodetección (WESTERN BLOT).

6 Metodología:

Criterios clínicos:

Criterio de Inclusión

1. Todo paciente en el que se tenga sospecha imagenológica de GBM por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) de cráneo de preferencia Resonancia Magnética Funcional (RMF).

Criterio de Eliminación

1. Muestra que a consideración del cirujano no sea suficiente como para dividirse en dos y enviarse a:
 - a. Análisis histopatológico.
 - b. Análisis molecular.
2. Diagnóstico del análisis histopatológico NO compatible con glioblastoma.
3. Muestra procesada para análisis molecular sin RNA cuantificable.

Obtención de las muestras:

Las muestras fueron obtenidas previa autorización del paciente mediante el consentimiento informado específico.

En sala de quirófano se llevaron a cabo resecciones subtotales de probables glioblastomas multiformes en pacientes con alta sospecha imagenológica y utilizando técnica microquirúrgica.

El tumor resecado se dividió en 2 muestras; una para enviarse a diagnóstico definitivo histopatológico y otra para procesó inmediato del tejido y extracción del RNA total.

La muestra que se tomó para procesamiento molecular se sumergió en 1ml de agente aislante TRIPURE (Roche) y se disgregó en una sala de quirófano contigua en recipientes estériles y bajo condiciones estériles. Se transportó en tubos de 10ml inmersos en nitrógeno líquido hasta el CINVESTAV y se almacenó en congelación a -70°C hasta contar con el diagnóstico definitivo de glioblastoma.

Cinco días hábiles posteriores a la resección quirúrgica se otorgaba el diagnóstico histopatológico definitivo y se decidía continuar con el proceso de extracción de RNA de las muestras en caso que fueran compatibles con glioblastomas.

Extracción de RNA total:

Una vez con el diagnóstico definitivo de glioblastoma, al número de muestras viables, se le realizó el aislamiento del RNA total en el laboratorio con agente de aislamiento TRIPURE (Roche) como lo indica el fabricante.

Ensayo de la Transcriptasa Inversa (RT)

El RNA se resuspendió en 50 µl tratada con dietil-pirocarbonato (DEPC) y se cuantificó por espectroscopia. Se emplearon 5 µg de RNA para la reacción de RT en 11 µl de agua tratada con DEPC y se le adicionó 1 µl de oligo dT (Invitrogen). Posteriormente se incubó a 70°C por 10 minutos y de inmediato se colocó en hielo por 5 minutos. En seguida se preparó la mezcla de la reacción, la cual consiste en: 4 µl de *First Strand* buffer 5x, 1 µl de DTT 0.1 M (1,4-Ditiotreitol), 1 µl de una mezcla equimolar de dNTP's 25 µM (Invitrogen). La mezcla se adicionó al tubo que contiene RNA y se incubó a 42°C por 2 minutos. A continuación se adicionó 1 µl de la enzima transcriptasa inversa (Invitrogen) y se incubó a 42°C durante 50 minutos. Finalmente la reacción fue detenida por incubación a 70-75° C durante 15 minutos.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Para la reacción de PCR, se emplearon 2 µl de cDNA de la reacción de transcriptasa reversa en un volumen final de 50 µl. Cada mezcla de reacción incluyó: 0.2 µl de Taq polimerasa, 1 µl de cada “primer” [50pM], 0.5 µl de dNTP's [0.25µM] , 5 µl de buffer de reacción 10X, 5 µl de DMSO (dimetil sulfóxido) (todos los reactivos se adquirieron de Invitrogen), y el volumen se completó con agua destilada libre de DNAsas y RNAsas (GIBCO). Las reacciones se llevaron a cabo dentro de un termociclador PCR Sprint Hybaid y Axygen Maxigene. Las condiciones de las reacciones y los “Iniciadores” empleados se muestran en la **Tabla 2**.

Todos los productos de PCR se observaron por electroforesis en geles de agarosa al 1% y 2% (dependiendo del peso molecular del fragmento deseado) teñidos con bromuro de etidio.

Tabla 2

Gen	Numero del Gene Bank	Iniciador sentido Iniciador anti sentido	Numero de ciclos	Temperatura de alineación	Longitud del producto
hugas1	NM_002048.2	5'CTGTGCCTGATGGCGCTGCTGC3' 5'ATGAGGGCCGAGATGCAGTGACTC3'	40	63	277
hugdntf	NM_000514.2	5' GCCCTTCGCGTTGAGCAGTGAC3' 5' GTCGTACGTTGTCTCAGCTGC3'	35	55	342
ret	NM_020630.4	5' CTGGTGAGGCGGTACACAA3' 5' CAGGTGGAGAAGTTCCTGGT3'	40	58	745
gfra1	NM_005264.3	5' CTGCAGCACCAAGTACCGCA3' 5' ACCTTGACTCTGGCTGGCAGT3'	40	58	695
shh	NM_000193.2	5' CCGACATCATATTTAAGGATGA3' 5' GACGTGGTGTATGCCACTGC3'	40	54	207
gil1	NM_005269.1	5' GGGATGATCCACATCCT3' 5' CTGGAGCAGCCCCCAGT3'	30	60	343
huβactin	NM_001101.2	5' TGGCACACACCTTCTACA3' 5' TCACGCACGATTTCCC3'	35	55	377

Inmunodetección (Western Blot)

Las proteínas totales fueron extraídas empleando el reactivo Tripure (Roche) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se utilizaron 50µg de proteína, se separaron en geles SDS-PAGE al 12% y transferidas en membranas de PVDF (Bio-Rad).

Las membranas se bloquearon durante 1 hora a temperatura ambiente con leche al 5% en TBST (0.05% Tween – 20 TBS) y posteriormente se incubaron con el anticuerpo primario contra AKT total (t-AKT) y AKT fosforilado (p-AKT) (Santa Cruz Biotechnology 1:500) toda la noche a 4°C.

Posterior a la incubación por la noche, las membranas fueron tratadas con anticuerpos secundarios de cabra-anti conejo (1:5000) lavados con PBST y por último fueron revelados con ECL.

7. RESULTADOS

Se recolectaron 9 muestras en total de tumores intracraneales de los cuales solo 3 se pudieron procesar por tratarse de glioblastomas multiformes. A 2 de ellos se les dio diagnóstico de metástasis de tumores de células claras y 4 tumores no se procesaron o por que la cantidad de RNA total no fue suficiente para procesarse de manera confiable o por que el RNA posterior a su extracción se degradó.

El análisis de la expresión de *Gas1*, así como de GDNF y sus componentes no se había determinado en glioblastomas sin tratamiento post-quirúrgico. Nuestros resultados indican la presencia del mRNA de GDNF, $GFR\alpha$, Ret. Así mismo se logró identificar el mensajero de SHH y Gli1 de la vía de señalización de SHH (**Figura 7**). Los controles celulares y el resumen de los resultados se expondrá en la **Tabla 3**.

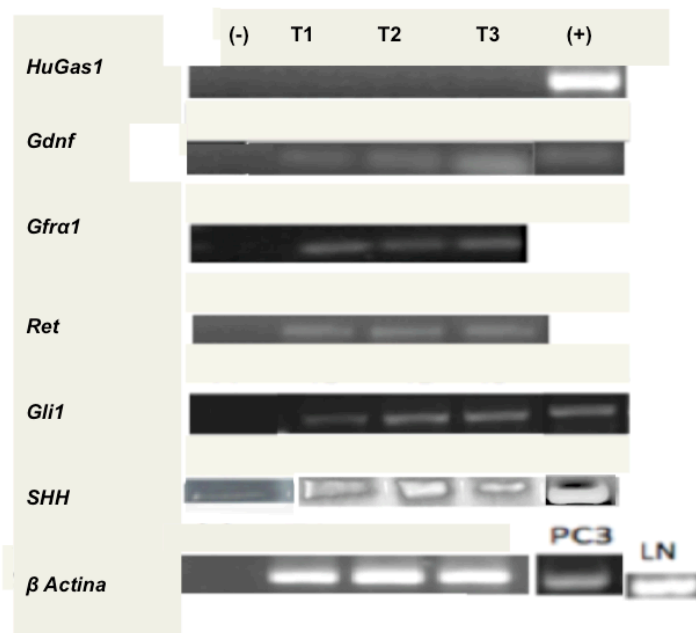


Figura 7: Resultado de RT-PCR realizada a los 3 glioblastomas obtenidos en el estudio etiquetados como T1,T2,T3. Control positivo para *Gas1* y *Gdnf* línea celular *SHSY5Y*; Para *SHH* *Sonic Hedgehog* y el mensajero *Gli1*; la línea celular de Cáncer Prostático *PC3*.

Se ha demostrado previamente que las vías de señalización que desencadenan los factores tróficos son indispensables en el tratamiento y progresión de los tumores. Por este motivo decidimos determinar los niveles de activación de AKT (p-AKT) ya que se ha demostrado que son un componente esencial en la vía de señalización mediada por GDNF.

Nosotros reportamos que t-AKT y p-AKT se encuentran en los 3 tumores estudiados por Western Blot y sugerimos que el aumento en la inmunodetección para pAKT con respecto a AKT total se debe a probablemente a dos factores; El primero mayor afinidad del anticuerpo para pAKT vs AKT total. Segundo que encontramos una forma pAKT aumentada en estos tumores por que pAKT juega un papel importante en la supervivencia de los glioblastomas (**Figura 8**).

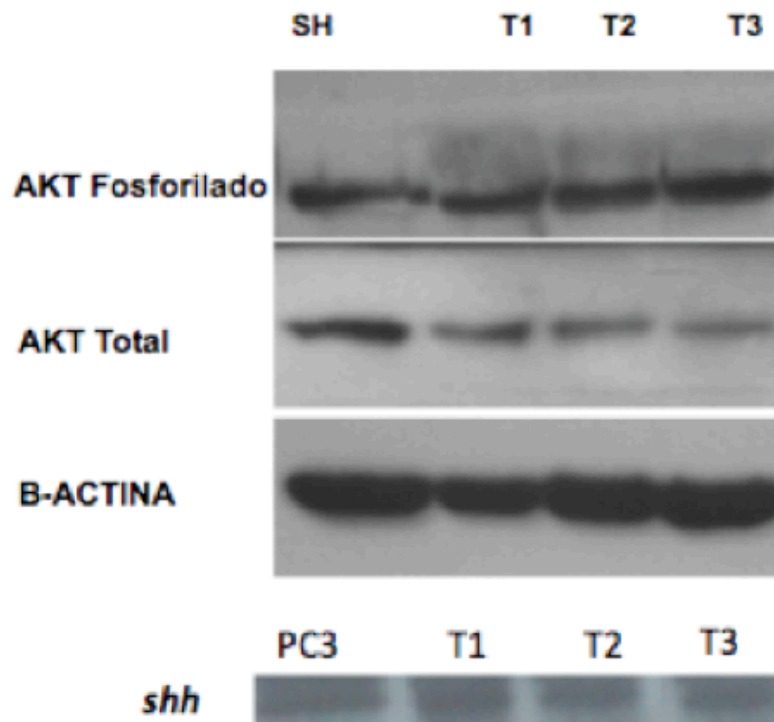


Figura 8:Fotografía de inmunodetección de AKT,pAKT y β -Actina.

De esta manera nuestros resultados se resumen en la siguiente tabla:

	T1	T2	T3	Control
Actina	+	+	+	+
Gas1	-	-	-	SH+
GDNF	+	+	+	SH+
GFR α 1	+	+	+	N
Ret	+	+	+	SH+
AKT	+	+	+	SH+ (WB)
AKTp	+	+	+	SH+ (WB)
Gli1	+	+	+	N
SHH	+	+	+	+PC3 (WB)

TABLA 3. RESUMEN DE RESULTADOS: Caracterización molecular en los 3 tumores (GBMs) T1,T2,T3:Tumores 1,2,3; SH Línea celular SHSY5Y; SH96h línea celular SHSY5Y en privación de suero por 96 horas(control positivo para Gas1); SHH Sonic hedgehog ; PC3 línea celular PC3; N; No se utilizo control positivo).

8. Discusión:

El cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolado de células, puede aparecer prácticamente en cualquier parte del cuerpo. El tumor suele invadir el tejido circundante y provocar metástasis en puntos distantes del organismo. Muchos tipos de cáncer se podrían prevenir evitando factores de riesgo comunes como el humo de tabaco. Además, un porcentaje de cánceres se presentan en edad productiva, causando incapacidad permanente e incluso la muerte en periodos de tiempo relativamente cortos como es el caso de los tumores malignos del cerebro (OMS, 2012).

Los tumores malignos del cerebro, comprenden del 15 al 20% de todas las enfermedades malignas que ocurren en los humanos, los síntomas dependerán de la localización del tumor, la tasa de crecimiento y del tipo de tumor. La etiología para la mayoría de los tumores es desconocida, sin embargo varios factores se han asociado al desarrollo de tumores (Blumenthal et al., 2008) como son:

- Síndromes congénitos (Neurofibromatosis, Sturge Weber, Li Fraumeni, Síndrome de Gorlin, Síndrome de las Neoplasias Endocrinas Múltiples)
- Exposición a radioterapia
- Antecedente de haber presentado un astrocitoma de bajo grado.
- Exposición a factores ambientales
- Predisposición familiar
- Alteraciones genéticas
- Otros

La primera clasificación de los tumores que realizó la organización mundial de la salud (OMS) se publicó en 1979, seguido por las revisiones de 1993, 2000 y 2007. Todas las clasificaciones se basan en la versión original de Cushing la cual describe a los tumores de acuerdo a su morfología y por su célula de origen (Tonn et al., 2010). Es por esto que la agrupación histológica de los tumores continúa siendo el “**gold standard**” para la evaluación neuro-oncológica. La OMS separa entonces a los tumores del sistema nervioso

central en IV grados además de su tipo histológico los cuales van de I (benigno) al IV (maligno).

El grado IV se le asigna a los tumores que son mitóticamente más activos y son propensos a desarrollar necrosis por el crecimiento y metabolismo acelerado de sus propias células. Este grado se le otorga a los gliomas malignos o glioblastomas, que son tumores de origen glial astrocítico que cuentan con la capacidad de ser invasores, son altamente proliferativos y producen necrosis del tejido tumoral y circundante.

Los glioblastomas representan un reto para la neuro-oncología. A pesar de los avances dramáticos en tecnología de imagen, técnicas microquirúrgicas y la radioterapia y quimioterapia, el pronóstico es pobre. La supervivencia promedio después del diagnóstico de glioblastoma y a pesar del manejo agresivo se reduce a menos de 1 año (Ehtsham et al., 2007).

La falla en la terapéutica actual radica en la naturaleza invasiva de estas lesiones. Los gliomas invaden las profundidades del parénquima normal, obligando a las resecciones quirúrgicas a limitarse a resecciones subtotales. Los tratamientos globales, como radiación o quimioterapia sistémica, fallan al no ofrecer una terapéutica efectiva local y condicionan efectos adversos sobre algunos otros órganos o funciones sistémicas. En este sentido, existe una necesidad urgente por desarrollar tratamientos más efectivos que puedan tener como blanco el tumor residual. Un abordaje racional resulta el desarrollo de la terapia génica o molecular en contra de estos tumores.

En nuestro laboratorio hemos investigado el efecto de la expresión del gen *gas1* en diferentes líneas celulares derivadas de tumores del sistema nervioso central o incluso cultivos primarios de gliomas de bajo y alto grado (Domínguez-Monzón et al., 2009).

Gas1 provoca la alteración de la vía de señalización de GDNF mediante inhibición de la auto fosforilación de la tirosina 1062 de Ret, reduciendo la activación de AKT inducida por GDNF. Por lo que se reduce la activación de

pAKT llevando al arresto celular y apoptosis por vía intrínseca (López-Ramírez et al., 2008, Zarco et al., 2012).

En la realización de esta tesis primariamente decidimos estudiar si los glioblastomas recién resecados expresaban los componentes de la vía de señalización de GDNF. Lo que se encontró es que estos tumores expresan GDNF, GFR α 1, RET, SHH y Gli a nivel transcripcional. Estos datos coinciden con los resultados reportados por Domínguez et al. en el 2009 en cultivos primarios de gliomas, los que indican que esta vía es necesaria e indispensable para la sobrevivencia tumoral, por otra parte no se encontró la presencia de Gas1 en estos tumores.

Hasta el día de hoy no existe caracterización de la expresión de Gas1 en glioblastomas que no hayan sido procesados en el laboratorio previamente. Por esta razón se planteó la necesidad de caracterizar la expresión de Gas1 en glioblastomas sin procesamiento post-quirúrgico. Esto implica que los hallazgos de nuestro laboratorio en experimentos *in vitro*, podrían extrapolarse considerando que la ausencia de Gas1 y su efecto demostrado es el mismo *in vivo*, lo cual abriría las puertas a una opción terapéutica en contra de esta patología.

9. CONCLUSION:

1. Los 3 glioblastomas estudiados en este trabajo de tesis de maestría expresan los componentes necesarios para la vía de señalización de GDNF y de la vía de SHH previamente descritos en cultivos primarios de astrocitomas:
 - a. GDNF
 - b. $GFR\alpha$
 - c. RET
 - d. SHH
 - e. Gli1

2. No expresan *Gas1*.

3. Fue posible detectar la fosforilación de AKT por inmunodetección lo cual corrobora la actividad de la vía de GDNF en ausencia de *Gas1*.

4. Con lo anteriormente señalado y en base a las observaciones previas en nuestro laboratorio. Consideramos que los glioblastomas multiformes humanos podrían ser blanco de tratamiento inducido mediante la sobre expresión de *Gas1*.

Referencias

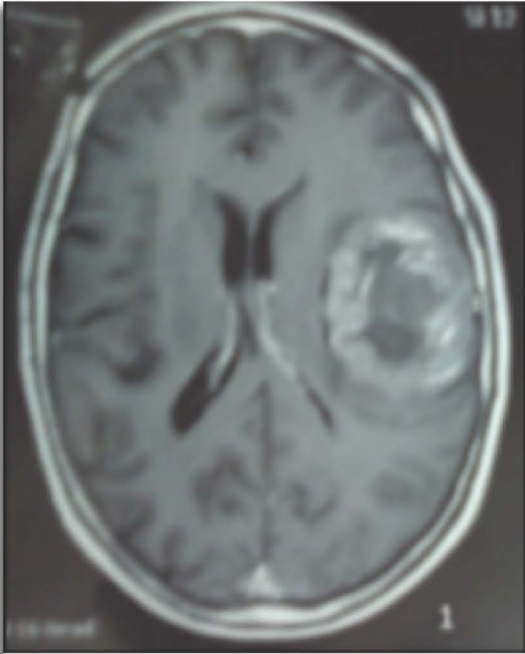
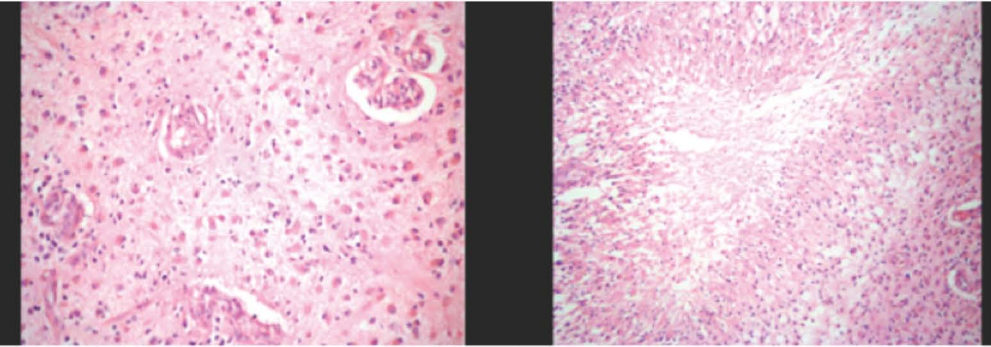
1. Airaksinen M., Titievsky A. GDNF family neurotrophic factor signaling: four masters, one servant? *Mol Cell Neurosciences* 13 (5): 313-325, 1999.
2. Allen B., Tensen T. The Hedgehog-binding proteins Gas1 and Cdo cooperate to positively regulate Shh signaling during mouse development. *Genes and development* 21 (10): 1244-1257, 2007.
3. Asai K., Murakami H. Switched -on Sonic hedgehog: a gene whose activity extends beyond fetal development to oncogenesis. *Journal of pediatrics Children Health* 43 (6): 421-423, 1996.
4. Assoian R., Schwartz M. Coordinate signaling by integrins and receptor tyrosine kinases in the regulation of G1 phase cell cycle progression. *Current Opinion Genetics development* 11 (1): 48-53, 2001.
5. Baloh R., Tansey M. Artemin, a novel member of the GDNF ligand family supports peripheral and central neurons and signals through the GFRalpha3 RET receptor complex. *Neuron* 21 (6): 1291-302, 1998.
6. Barzon L., Zanusso M. Clinical trials of gene therapy, virotherapy, and immunotherapy for malignant gliomas. *Cancer Gene Therapy* 13 (6): 539-554, 2006.
7. Becher OJ, Hambardzumyan D. Gli Activity Correlates with tumor grade in platelet derived growth factor induced gliomas. *Cancer research* 68 (7): 2241-2249, 2008.
8. Benitez JA., Arregui L. Targeted-simultaneous expression of Gas1 and p53 using a bicistronic adenoviral vector in gliomas. *Cancer Gene Therapy* 14 (10): 836-846, 2007.
9. Benitez JA., Dominguez-Monzon G. Conventional and Gene therapy strategies for the treatment of brain tumors. *Current Med Chem* 15 (8): 729-742, 2008.
10. Brenner M., Kisseberth W. GFAP promoter directs astrocyte-specific expression in transgenic mice. *Journal of neurosciences* 14 (3): 1030-1037, 1994.
11. Brunet A., Bonni A. Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. *Cell* 96 (6): 857-868, 1999.
12. Burgering B., Coffey P. Protein kinase B (c-Akt) in phosphatidylinositol-3-OH kinase signal transduction. *Nature* 376 (6541): 599, 1995.
13. Cabrera J., Sanchez Pulido L. Gas1 is related to the glial cell derived neurotrophic factor family receptors and regulates Ret signaling. *Journal of Biology and chemistry* 281 (20): 14330-14339, 2006.

14. Chari NS., McDonnell TJ. The sonic hedgehog signaling network in development and neoplasia. *Adv Anat Pathol* 14 (5): 344-352, 2007.
15. Chen J., Huang S. In vivo research in astrocytoma cell proliferation with 1H-magnetic resonance spectroscopy: Correlation with histopathology and immunohistochemistry. *NEuroradiology* 48 (5): 312-318, 2006.
16. Dahmane N., Sanchez P. The sonic hedgehog -gli pathway regulates dorsal brain growth and tumorigenesis. *Development* 128 (24): 5201-5212, 2001.
17. Del Sal G., Ruaro E. The growth arrest specific gene, gas1, is involved in growth suppression. *Cell* 70 (4): 595-607, 1992.
18. Del Sal G., Ruaro E. Gas1 induced growth suppression requires transactivation-independent p53 function. *Mol Cell Biol* 15 (12): 7152-7160, 1995.
19. Dominguez-Monzon G., Benitez JA., Segovia J. Gas1 inhibits cell proliferation and induces apoptosis of human primary gliomas in the absence of Shh. *Int J Dev Neurosciences* 27: 305-313, 2009.
20. Dominguez-Monzon G., Gonzalez-Ramirez R. Molecular mechanism of action of Gas1 and its possible therapeutic applications. *Current Signal Transduction Therapy*, 2009.
21. Ehtesham M., Sarangi A. Ligand dependent activation of the hedgehog pathway in glioma progenitor cells. *Oncogene* 26 (39): 5752-5761, 2007.
22. Evodokiiou A., Cowled P. Growth regulatory activity of the growth arrest specific gene, GAS1 in the NIH3T3 fibroblast. *Exp Cell Res* 240 (359-367), 1998.
23. Evodokiiou A., Cowled P. Tumor suppressive activity of the growth arrest specific gene GAS1 in human tumor cell lines *Int J cancer* 75 (4): 568-577, 1998.
24. Gobeil S ZX. A genome wide shRNA screen identifies GAS1 as a novel melanoma metastasis suppressor gene. *Genes Dev* 22 (21): 2932-2940, 2008.
25. Groves M., Puduvalli VK. A north american brain tumor consortium (NABTC 99-04) phase II trial of temozolamide plus thalidomide for recurrent glioblastoma multiforme. *Journal of neuro oncology* 81 (3): 271-277, 2007.
26. Hayashi H., Ichihara M. Characterization of intracellular signals via tyrosine 1062 in RET activated by glial cell line derived neurotrophic factor. *Oncogene* 19 (39): 4469-4475, 2000.
27. Hennige A., Lammers R. Ret oncogene signal transduction via a IRS-2/PI 3 kinase/PKB and a SHC/Grb-2 dependent pathway: possible implication for transforming activity in NIH3T3 cells *Mol endocrinology* 167 (1-2): 69-76, 2000.
28. Holland E.C. Gliomagenesis: genetic alterations and mouse models. *Nature Review*

- Genetics 2 (2): 120-129, 2001.
29. Kim D., Hoyt J. Detection of proliferating cell nuclear antigen in gliomas and adjacent resection margins. *Neurosurgery* 33 (4): 619-625, 1993.
 30. Lee K., Leung A. Functions of the growth arrest specific 1 gene in the development of the mouse embryo. *Developmental biology* 234 (1): 188-203, 2001.
 31. Lee K., Leung A. Evidence that WNT inducible growth arrest specific gene 1 encodes an antagonist of sonic hedgehog signaling in the somite. *Proc Nat Acad Sci* 98 (20): 11347, 2001.
 32. Liu Y., May NR. Growth arrest specific gene 1 is a positive growth regulator for the cerebellum. *Developmental biology* 236 (1): 30-45, 2001.
 33. Linja M. Stepping on the GAS: a brake for melanoma metastasis? *Pigment Cell Melanoma Res* (22): 8-9, 2009.
 34. Lopez Ramirez MA., Dominguez –Monzon G. Gas1 reduces Ret tyrosine 1062 phosphorylation and alters GDNF mediated intracellular signaling. *Int J Dev* 26 (5): 497-503, 2008.
 35. Martinelli DC. Gas1 extends the range of hedgehog action by facilitating its signaling. *Genes Dev* 21 (10): 1231-1243, 2007.
 36. Mellstrom B., Cena V. Gas1 is induced during and participates in excitotoxic neuronal death *Mol Cell Neurosciences* 19 (3): 417-429, 2002.
 37. Norbert Boss., Max Aebi. *Spinal Disorders*: Springer, 2008.
 38. Obayashi S., Tabunoki H. Gene expression profiling of human neural progenitor cells following the serum induced astrocyte differentiation. *Cell Mol Neurobiol*, 2009.
 39. Pulkkanen K J., Yla Herttuala. Gene therapy for malignant glioma: current clinical status. *Mol Ther* 12 (4): 585-598, 2005.
 40. Reifenberger G., Collins VP. Pathology and molecular genetics of astrocytic gliomas. *J Molecular Medicine* 82 (10): 656-670, 2004.
 41. Ruiz i Altaba., Stecca B. Hedgehog Gli signaling in brain tumors: stem cells and paraneoplastic programs in cancer. *Cancer* 57 (3): 243-253, 2004.
 42. Schneider C., King RM. Genes specifically expressed at growth arrest of mammalian cells. *Cell* 54 (6): 787-793, 1988.
 43. Seppala M., Depew M. Gas1 is a modifier for holoprosencephaly and genetically interacts with sonic hedgehog. *J Clin Invest* 117 (6): 1575-1584, 2007.
 44. Shueler Furman., Glick E. Is GAS1 a coreceptor for the GDNF family of ligands? *Trends Pharmacology* 27 (2): 72-77, 2006.

45. Sotelo C. Cellular and genetic regulation of the development of the cerebellar system. *Prg Neurobiology* 72 (5): 295-339, 2004.
46. Stupp R., Mason W. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *New England Journal of Medicine* 352 (10): 987-996, 2005.
47. Brennan C, Momota H, Hambarzumyan D, Ozawa T, Tandon A, et al. (2009) Glioblastoma Subclasses Can Be Defined by Activity among Signal Transduction Pathways and Associated Genomic Alterations. *PLoS ONE* 4(11): e7752. doi:10.1371/journal.pone.000775
48. Tahira T., Ishizaka Y. Characerization of ret protooncogene mRNAs encoding two isoforms of the protein product in a human neuroblastoma cell line. *Oncogene* 5 (1): 97-102, 1990.
49. Takahashi ., Buma Y. Isolation of ret protooncogene cDNA with an amino terminal signal sequence. *Oncogene* 4 (6): 805-806, 1989.
50. Vascovi A., Galli R. Brain tumor stem cells. *Nat Rev Cancer* 6 (6): 425-436, 2006.
51. Vredenburgh J., Desjardins A. Phase II Trial of Bevecizumab and Irinotecan in recurrent Malignant Glioma. *Clinical Cancer Research* 13 (4): 1253 -1259, 2007.
52. Wen P., Yung W. Phase I-II Study of Imatinib Mesylate for recurrent malignant Gliomas: North American Brain Tumor Consortium Study 99-08. *Clinical Cancer Research* 12 (16): 4899, 2006.
53. Wetmore C. Sonic the Hedgehog in normal and neoplastic proliferation insight gainde from human tumors and animal models. *Curr Opin Genet Dev* 13 (1): 34-42, 2003.
54. Zamorano A., Mellstrom. Glial Specific retrivirally medited gas1 gene expression induces cell apoptosis and inhibits tumor growth n vivo. *Neurobiol Dis* 15 (3): 483-491, 2004.
55. Zarco N, Segovia J, Gas1 induces cell death through an intrinsic apoptotic pathway. *Apoptosis* DOI 10.1007/s10495-011-0696-8

ANEXO 1
 Caracterización histopatológica e Imagenológica de los 3 glioblastomas
 estudiados en esta tesis:

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA:
 SE RECIBE SEGMENTO DE TEJIDO CEREBRAL QUE CORRESPONDE A LA REGIÓN FRONTOTEMPORAL, LA CUAL MIDE 6.5X6X5CM. BLANCO GRISACEO, BLANDO, AL CORTE PRESENTA LESIÓN FRIABLE, BLANDO, DE COLOR BLANCO GRISACEO, QUE MIDE 3X2.5X2CM, DE BORDOS MAL DEFINIDOS. SE INCLUYEN CORTES REPRESENTATIVOS EN CINCO CÁPSULAS ETIQUETADAS COMO A, B, C, D, E. S/ DR. MERCEDES HERNÁNDEZ/ADRIAN LÓPEZ.

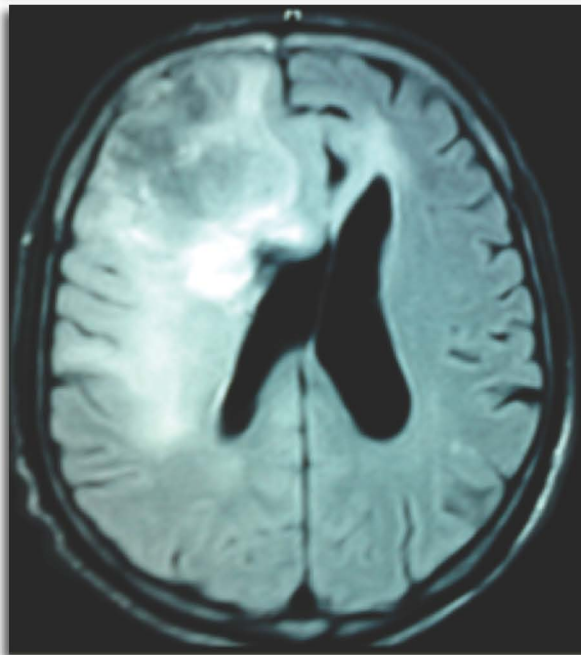
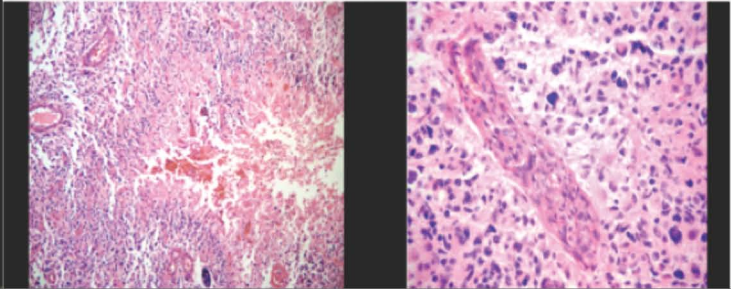
LESION FRONTOTEMPORAL DERECHA (RESECCION)

CODIGO:
 C710 GLIOBLASTOMA MULTIFORME
 VEAG VER AGREGADO

REGADO:
 -EL CASO FUE CONSULTADO CON NEUROLOGIA.

**HOSPITAL GENERAL
 SERVICIO DE ANATOMÍA
 UNIDAD DE PATOLOGÍA**

BIOPSIA: 1001702

DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA:
 SE RECIBE UN FRASCO CON FORMOL ETIQUETADO COMO "TUMOR CEREBRAL" PRODUCTO DE RESECCIÓN PARCIAL TUMORAL. CORRESPONDE A VARIOS FRAGMENTOS DE TEJIDO QUE MIDEN EN CONJUNTO 7.0 X 5.0 X 1.0 CM. EL MAYOR 2.0 X 1.0 CM Y LOS MENOR 0.5 X 0.5 CM, SON IRREGULARES, CONSISTENCIA BLANDA, COLOR CAFE CLARO. SE INCLUYEN CORTES REPRESENTATIVOS EN CUATRO CÁPSULAS S/ DR. GONZALEZ/DURAN.

TUMOR CEREBRAL (RESECCION PARCIAL TUMORAL)

CODIGO:
 C710 GLIOBLASTOMA MULTIFORME
 VEAG VER AGREGADO

REGADO:
 GLIOBLASTOMA MULTIFORME ORIGINADO DE UN ASTROCITOMA DIFUSO (FIBROBLASTO Y GEMISTOCITOS).
 -EL CASO FUE CONSULTADO CON EL SERVICIO DE NEUROLOGIA.

**HOSPITAL GENERAL
 SERVICIO DE ANATOMÍA
 UNIDAD DE PATOLOGÍA**

BIOPSIA: 1007346

VISOR: DURAN PADILLA MARCO ANTONIO RESIDENTE: GONZALEZ ATENCIO YALIRETH

APTURISTA DEL RESULTADO: TEPEPA ZAMORA MARIA ANTONIETA ENTREGO AL SERVICIO: S



DESCRIPCION MACROSCOPICA:

SE RECIBEN VARIOS FRAGMENTOS IRREGULARES DE TEJIDO QUE MIDEN EN CONJUNTO 1.5 X 1.0 CM, COLOR CAFÉ GRISÁCEO CON ÁREAS HEMORRÁGICAS, DE CONSISTENCIA BLANDA, SE INCLUYEN TOTALMENTE EN UNA CÁPSULA.

S: 0

DR. ALCÁNTARA / DRA. VIZCAINO

LOBULO FRONTAL IZQUIERDO (RESECCION PARCIAL-BIOPSIA)

CODIGO:

711 GLIOMASTOMA FRONTAL

SAG VTR AGREGADO

REGADO:

EL CASO FUE REVISADO POR EL SERVICIO DE NEUROPATOLOGIA, BIOPSIA: 1011091

REVISOR: ALCANTARA VAQUEZ AVEISSA

RESIDENTE: VIZCAINO VILLALOBOS MARIA ADEL



HOSPITAL GENERAL
SERVICIO DE ANATOMÍA
UNIDAD DE PATOLOGÍA

