



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**MUTAÇÃO DO GENE DA ISOCITRATO DESIDROGENASE 1 E A RELAÇÃO
COM O PROGNÓSTICO E A SENSIBILIDADE AO TRATAMENTO COM
RADIOTERAPIA EM GLIOMAS DIFUSOS**

ROSEANE ELOIZA MÁXIMO SILVA

UBERLÂNDIA

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

ROSEANE ELOIZA MÁXIMO SILVA

**MUTAÇÃO DO GENE DA ISOCITRATO DESIDROGENASE 1 E A RELAÇÃO
COM O PROGNÓSTICO E A SENSIBILIDADE AO TRATAMENTO COM
RADIOTERAPIA EM GLIOMAS DIFUSOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Ciências da Saúde.
Orientadora: Prof. Dra. Ana Cristina Araújo Lemos da Silva. Professora adjunta. Área de anatomia patológica. UFU.

UBERLÂNDIA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

S586m
2018 Silva, Roseane Eloiza Máximo, 1982
 Mutação do gene da isocitrato desidrogenase 1 e a relação com o
 prognóstico e a sensibilidade ao tratamento com radioterapia em gliomas
 difusos [recurso eletrônico] / Roseane Eloiza Máximo Silva. - 2018.

 Orientadora: Ana Cristina Araújo Lemos da Silva.
 Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
 Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde.

 Modo de acesso: Internet.

 Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.834>

 Inclui bibliografia.

 Inclui ilustrações.

 1. Ciências médicas. 2. Tumores. 3. Mutação (Biologia). 4.
 Radioterapia. I. Silva, Ana Cristina Araújo Lemos da, (Orient.) II.
 Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
 Ciências da Saúde. III. Título.

CDU: 61

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Jesus e Eleuza pelos fundamentos morais e emocionais, pelo exemplo de integridade, humanidade, pelo apoio e amor incondicionais.

As minhas irmãs Lilian e Marina pelo carinho e paciência.

Ao meu amado esposo Maurício por todo amor, companheirismo e incentivo.

Aos meus amigos e familiares pela compreensão.

A todos os profissionais envolvidos na pesquisa e no tratamento do câncer.

A todos os pacientes diagnosticados com tumores cerebrais.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, professora Doutora Ana Cristina Araújo Lemos da Silva pelos ensinamentos, apoio e confiança.

À Dra. Paula Philbert Lajolo Canto, ao Dr. Luiz Carlos de Carvalho Duarte, à Dra. Cizelene do Carmo Faleiros Veloso Guedes, à Dra. Lucinda Calheiros Guimarães, ao Dr. Sérgio Vitorino Cardoso, à Ms. Andrea de Martino Luppi pelas importantes orientações e contribuições técnicas-científicas. Ao Dr Fausto Rodriguez pela atenção especial em caso desafiador.

Aos meus colegas radio-oncologistas, físicos médicos e funcionários do Hospital do Câncer de Uberlândia.

A todos os que participaram direta ou indiretamente desse projeto.

RESUMO

Introdução: No mundo foram diagnosticados em 2014, 256.000 novos casos de tumores do Sistema Nervoso Central (SNC) e no Brasil, estima-se 11.320 novos casos em 2018. Os gliomas correspondem a 20% dos casos e a 80% dos tumores malignos. Mutações no gene da Isocitrato Desidrogenase 1 (IDH1) estão presentes em mais de 80% dos oligodendrogliomas e oligoastrocitomas graus II, III e glioblastomas secundários e conferem maior sobrevida global aos pacientes. A radioterapia desempenha um papel fundamental no tratamento dos gliomas e as evidências sugerem que os pacientes mutados têm um aumento na sensibilidade a radioterapia.

Metodologia: O estudo avaliou 20 pacientes com diagnóstico de glioma difuso submetidos a radioterapia no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia entre os anos de 2005 a 2016. Blocos de histologia com tecido tumoral dos pacientes foram submetidos a técnica de TMA, seguida de coloração HE para confirmação histológica e exame de imuno-histoquímica para observação do status da mutação IDH1. Estatisticamente, foi utilizado um nível de significância de 5% ($p < 0,05$), as curvas de sobrevida foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier e Regressão de Azares proporcionais de Cox, utilizando o software SPSS v.21.

Resultados: A mutação IDH1 foi encontrada em 45% dos pacientes. A análise das variáveis mostrou no modelo univariado sem ajustes que as variáveis associadas ao óbito foram: idade avançada, diagnóstico de glioma infiltrativo de alto grau, dose de radioterapia < 3060 cGy e ausência de mutação no IDH. A presença da mutação IDH1 foi identificada como fator de proteção na análise univariada, conferindo benefício de sobrevida aos pacientes mutados ($p = 0,020$), mas não permaneceu como variável independente na avaliação multivariada. Não foi identificada diferença significativa entre o sexo, a localização anatômica da lesão e a extensão da ressecção cirúrgica em relação à sobrevida global. Houve um aumento do risco de morte em pacientes que receberam baixas doses de radioterapia ($p = 0,001$).

Conclusão: Pacientes mutados que foram submetidos a doses altas de radioterapia apresentaram tendência de melhor sobrevida se comparado com pacientes sem a mutação e que receberam doses baixas de radioterapia.

Palavras chaves : Gliomas, mutação IDH1, sobrevida, radioterapia

ABSTRACT

Introduction: In 2014, 256,000 new cases of Central Nervous System (CNS) tumors were diagnosed, in Brazil estimated 11,320 new cases were diagnosed in 2018. Gliomas accounted for 20% of cases and 80% of malignant tumors. Mutations in the isocitrate dehydrogenase 1 (IDH1) gene are present in more than 80% of the oligodendrogliomas and oligoastrocytomas grades II, III and glioblastomas and have been found more comprehensively in patients. Radiotherapy has played a key role in the treatment of gliomas and as an antihypertensive therapy.

Methodology: The study evaluated 20 patients diagnosed with glioma after radiotherapy at Hospital de Clínicas Federal University of Uberlândia between 2005 and 2016. Histological blocks with tumor tissue of the patients were submitted to the TMA technique, followed by HE staining for histological confirmation and immunohistochemistry to observe the status of the IDH1 mutation. Statistically, a significance level of 5% ($p < 0.05$) was used, the survival curves were estimated using the Kaplan-Meier method and Cox proportional hazard Regression using SPSS software v.21.

Results: The IDH1 mutation was found in 45% of the patients. The analysis of the variables did not present more univariate without adjustments than the variables compatible with the were: advanced age, diagnosis of high grade infiltrative glioma, radiotherapy dose < 3060 c and absence of mutation in the IDH1. Identification of the IDH1 mutation was identified as an updating factor in the univariate analysis, conferring survival benefit to the mutated patients ($p = 0.020$), but did not remain as an independent variable in the multivariate evaluation. What is a way of making a difference between sex, an anatomical location of the lesion, and an extent of surgical resection in relation to overall survival. There was an increased incidence of death in patients receiving low doses of radiotherapy ($p = 0.001$).

Conclusion: Mutated patients who were submitted to high doses of radiotherapy showed a trend of better survival when compared to patients without the mutation and who received low doses of radiotherapy.

Keywords: Gliomas, IDH1 mutation, survival, radiotherapy

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Incidência de câncer no mundo, em 2012, segundo a OMS(STEWART, BERNARD W; WILD, 2014).	21
Figura 2. Mortalidade de câncer no mundo, em 2012, segundo a OMS (STEWART, BERNARD W; WILD, 2014).	22
Figura 3. Estimativa do número de casos, por sítio, nos dois sexos, no mundo (Total 14067.894) (STEWART, BERNARD W; WILD, 2014).....	22
Figura 4. Distribuição dos tumores do SNC por 100.000 indivíduos, segundo o IDH (STEWART, BERNARD W; WILD, 2014).....	24
Figura 5. Incidência de tumores do sistema nervoso central segundo a faixa etária (WRENSCH et al., 2002)	25
Figura 6. Distribuição dos subtipos de tumores do SNC (WRENSCH et al., 2002)...	26
Figura 7. Patogênese Genética e Molecular de GBM. (A) alterações envolvidas em GBMs primários e secundários. (B) Subtipos de GBMs primários e secundários. Adaptado de (HANIF et al., 2017)	29
Figura 8. Curvas de sobrevida de pacientes com tumores cerebrais, segundo os diferentes graus de malignidade - RTOG 9404(PRADOS et al., [s.d.])	30
Figura 9. Algoritmo para classificação e diagnóstico dos gliomas difusos baseado em fatores histológicos e genéticos (LOUIS et al., 2016).....	35
Figura 10. Formas ativas da atividade das enzimas IDH1 selvagem e IDH1 mutada (WAITKUS; DIPLAS; YAN, 2016).....	36
Figura 11. Representação da função normal (A) e mutada (B) da IDH1 no ciclo de Krebs (GUPTA et al., 2011).....	38

Figura 12.A). Bloco de histologia de um tecido cerebral de um dos pacientes, com a região da alteração celular tumoral delimitada com um círculo vermelho. B). Bloco após a realização do TMA, com os fragmentos de todos os 20 casos participantes.54

Figura 13.A). Lâmina corada em HE com cortes obtidos do bloco de TMA. B). Lâmina corada através de imuno-histoquímica com reação para IDH1, com cortes obtidos do bloco de TMA.56

Figura 14. Reação imuno-histoquímica positiva para a mutação IDH1.....56

Figura 15. Reação imuno-histoquímica negativa para a mutação IDH1.57

Figura 16. Diagrama de seleção da população do estudo.61

Figura 17. Distribuição das doses de radioterapia realizadas, utilizando como dose de referência o valor médio entre 0 e 6120 cGy (3060 cGY).64

Figura 18. Curva de sobrevida pelo método de Kaplan-Meier conforme mutação IDH sem ajuste (A) e com ajuste pelo modelo multivariado (B)65

Figura 19. Curva de sobrevida pelo método de Kaplan-Meier conforme interação entre dose da radioterapia e mutação sem ajuste (A) e com ajuste pelo modelo multivariado (B).67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo, exceto pele não melanoma (Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil, 2017).....	23
Tabela 2. Classificação da OMS para os tumores do SNC (LOUIS et al., 2016).	28
Tabela 3. Especificação do anticorpo a ser utilizado para identificação da mutação.	55
Tabela 4. Características dos pacientes amostrados e associações com a mutação IDH1.	62
Tabela 5. Análise de Regressão de Cox univariada e multivariada para avaliar fatores independentemente associados ao óbito.	63
Tabela 6. Análise de Regressão de Cox univariada e multivariada para avaliar fatores independentemente associados ao óbito considerando interação entre dose da radioterapia e mutação.....	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

OMS	Organização mundial de saúde
INCA	Instituto Nacional do Câncer
SNC	Sistema Nervoso Central
IDH	Isocitrato desidrogenase
GBM	Glioblastoma multiforme
RM	Ressonância magnética
VSC	Volume Sanguíneo Cerebral
RTOG	Radiation Therapy Oncology Group
KPS	Karnowski Performance Status
NCCN	National Comprehensive Cancer Network
EORTC	European Organization for Research and Treatment of Cancer
RT 3D	Radioterapia Tridimensional
IMRT	Radioterapia de Intensidade Modulada
PCV	Procarbazina, CCNU e Vincristina
TMZ	Temozolamida
DNA	Ácido desoxirribonucleico
TP 53	tumor protein p53
MGMT	Metil guanina DNA metil transferase
α -KG	α -Cetoglutarato
NADPH	Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato
HIF1 α	Fator Indutor de Hipóxia
WT-WT	Wild-Type – Wild-Type
VEGF	Fator de crescimento endotelial
PGK1	Cinase fosfoglicerato
HC- UFU	Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
UFU	Universidade Federal de Uberlândia
TMA	Tissue Microarray Technology
TC	Tomografia computadorizada

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1	EPIDEMIOLOGIA	21
1.2	CLASSIFICAÇÃO E PATOGÊNESE	26
1.3	TRATAMENTO	30
1.4	DIAGNÓSTICO	33
1.5	MUTAÇÃO IDH1 E TUMORIGÊNESE	35
1.6	MUTAÇÃO IDH1 E TRATAMENTO COM RADIOTERAPIA	39
2	JUSTIFICATIVA	43
3	OBJETIVOS	47
3.1	OBJETIVO GERAL	49
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	49
4	MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1	COLETA DE DADOS	53
4.2	ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E IMUNO-HISTOQUÍMICA	54
4.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	57
5	RESULTADOS	59
6	DISCUSSÃO	69
7	CONCLUSÃO	75
8	ANEXOS	79
8.1	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)	81
8.2	DADOS DOS PARTICIPANTES ANALISADOS SEGUNDO O STATUS DA MUTAÇÃO IDH1	83
9	REFERÊNCIAS	87

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia

O câncer é hoje uma das principais causas de morte em todo o mundo, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS). Dados do World Câncer Report, revelaram que no ano de 2012 foram diagnosticados aproximadamente 14 milhões de novos casos no mundo; 8,2 milhões de pessoas morreram vítimas da doença. As figuras 1 e 2 mostram a distribuição da incidência e da mortalidade por câncer no mundo. A previsão para as duas próximas décadas é de 23,6 milhões de novos casos de câncer no mundo, representando um aumento de 68% em comparação com o ano de 2012 (STEWART, BERNARD W; WILD, 2014). No Brasil, segundo estimativa do Instituto Nacional do Câncer (INCA) o número estimado de novos casos de câncer no biênio 2018-2019 é de 600 mil casos para cada ano (Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil, 2017).

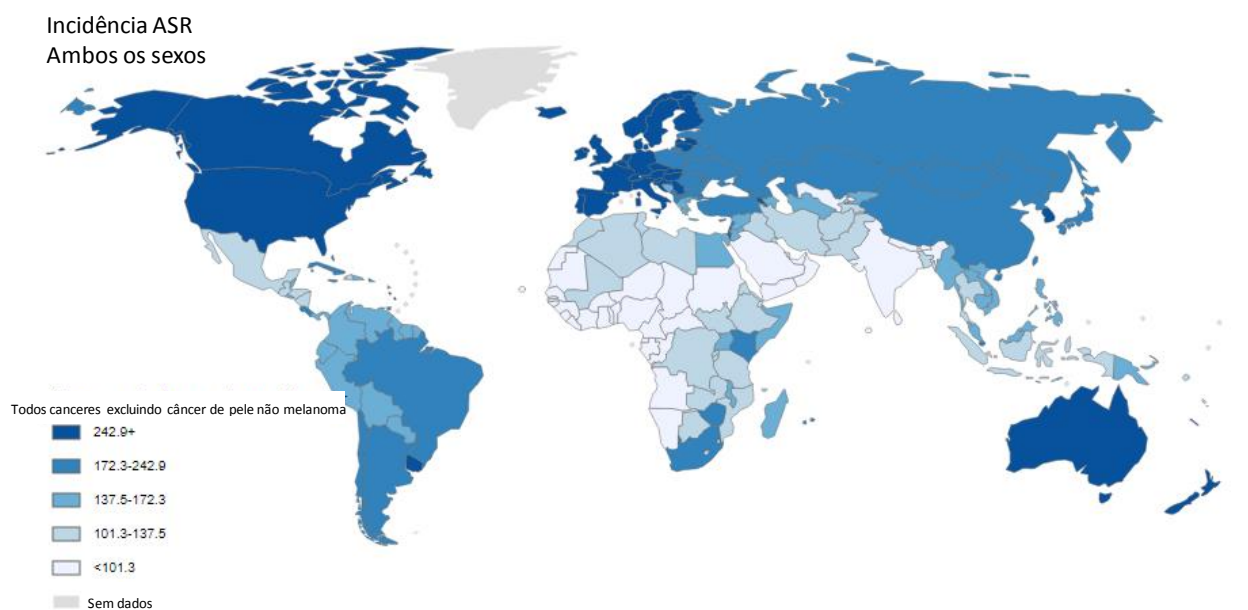


Figura 1. Incidência de câncer no mundo, em 2012, segundo a OMS(STEWART, BERNARD W; WILD, 2014).

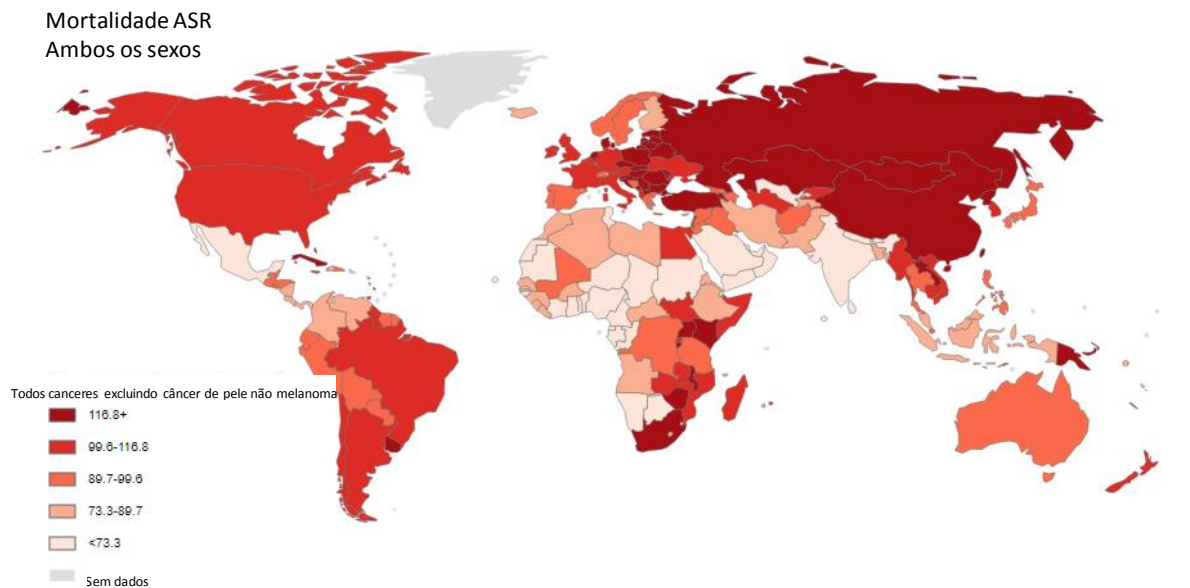


Figura 2. Mortalidade de câncer no mundo, em 2012, segundo a OMS (STEWART, BERNARD W; WILD, 2014).

Os tipos de câncer mais diagnosticados no mundo em 2014, foram os cânceres de pulmão, mama, cólon retal, próstata e estômago, representando cerca de 40% de todos os casos (figura 3). Distribuição semelhante acontece no Brasil (tabela 1), com predomínio de tumores de mama em mulheres e de próstata em homens (STEWART, BERNARD W; WILD, 2014)(Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil, 2017)

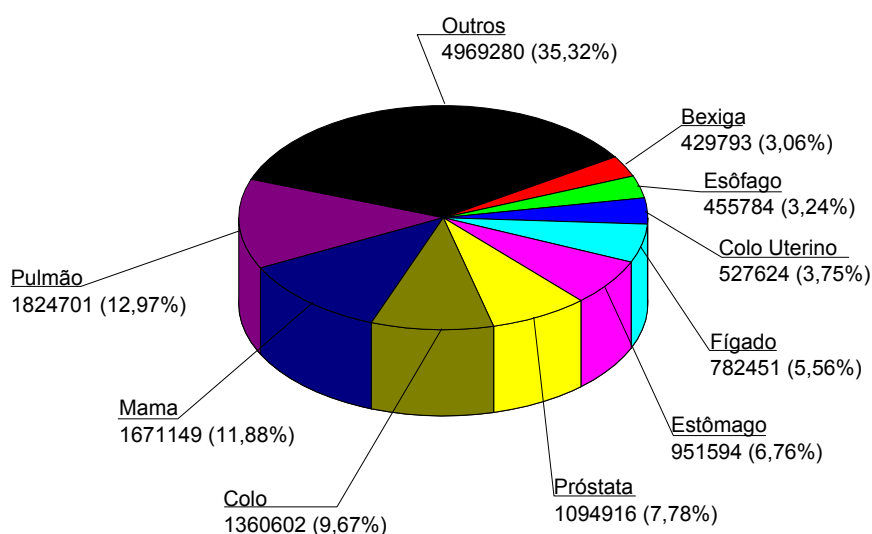
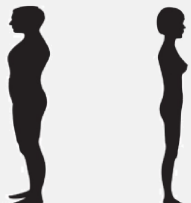


Figura 3. Estimativa do número de casos, por sítio, nos dois sexos, no mundo (Total 14067.894) (STEWART, BERNARD W; WILD, 2014).

Tabela 1. Distribuição proporcional dos dez tipos de câncer mais incidentes estimados para 2018 por sexo, exceto pele não melanoma (Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil, 2017).

Localização Primária	casos	%	Homens	Mulheres	Localização Primária	casos	%
Próstata	68.220	31,7%			Mama feminina	59.700	29,5%
Traqueia, Brônquio e Pulmão	18.740	8,7%			Cólon e Reto	18.980	9,4%
Cólon e Reto	17.380	8,1%			Colo do útero	16.370	8,1%
Estômago	13.540	6,3%			Traqueia, Brônquio e Pulmão	12.530	6,2%
Cavidade Oral	11.200	5,2%			Glândula Tireoide	8.040	4,0%
Esôfago	8.240	3,8%			Estômago	7.750	3,8%
Bexiga	6.690	3,1%			Corpo do Útero	6.600	3,3%
Laringe	6.390	3,0%			Ovário	6.150	3,0%
Leucemias	5.940	2,8%			Sistema Nervoso Central	5.510	2,7%
Sistema Nervoso Central	5.810	2,7%			Leucemias	4.660	2,4%

* números arredondados para múltiplos de 10.

Os tumores do Sistema Nervoso Central (SNC) são consideradas neoplasias raras, correspondendo aproximadamente a 2% de todas as neoplasias malignas, com uma estimativa de 256.000 novos casos por ano no mundo (STEWART, BERNARD W; WILD, 2014). No Brasil, conforme demonstrado na tabela 1, os tumores do sistema nervoso ocupam a décima posição na incidência dos tumores para os homens e a nona posição para as mulheres e para o ano de 2018, estima-se 5.810 casos novos em homens (2.7%) e 5.510 casos em mulheres (2.3%). Esses valores correspondem a um risco estimado de 5,62 casos novos a cada 100 mil homens e 5,17 para cada 100 mil mulheres (Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil, 2017).

Esses tumores apesar de raros, são alvo de grande interesse científico devido ao impacto na estrutura social que provocam o seu diagnóstico e tratamento. Apresentam, em geral elevada morbidade e mortalidade, com sequelas psicológicas em pacientes e familiares, desestruturação da organização social e coletiva e perda de material humano economicamente produtivo. Os tumores cerebrais ainda acometem aproximadamente 20% de todos os tumores em indivíduos menores de 21 anos de idade, sendo o segundo tipo de câncer mais comum nas crianças e o terceiro mais frequente em adolescentes, tornando o seu diagnóstico ainda mais sombrio (RICKERT; PAULUS, 2001) (WARD et al., 2014).

Avaliações de estatísticas raciais e geográficas dos tumores do SNC são dificultadas pelas inconsistências das notificações. Os países desenvolvidos apresentam maiores taxas de incidência de câncer de SNC, o que pode ser explicado pelo melhor acesso a saúde, aos métodos diagnósticos mais eficientes e ao adequado sistema de notificação da doença, além da elevada taxa de expectativa de vida da população; a taxa de mortalidade é proporcional, seguindo o mesmo âmbito das melhores condições e acesso aos tratamentos. Nos países subdesenvolvidos a incidência desses tumores é menor, mas a mortalidade é

proporcionalmente mais acentuada, devido a precariedade dos sistemas e acesso à saúde (Figura 4) (STEWART, BERNARD W; WILD, 2014).

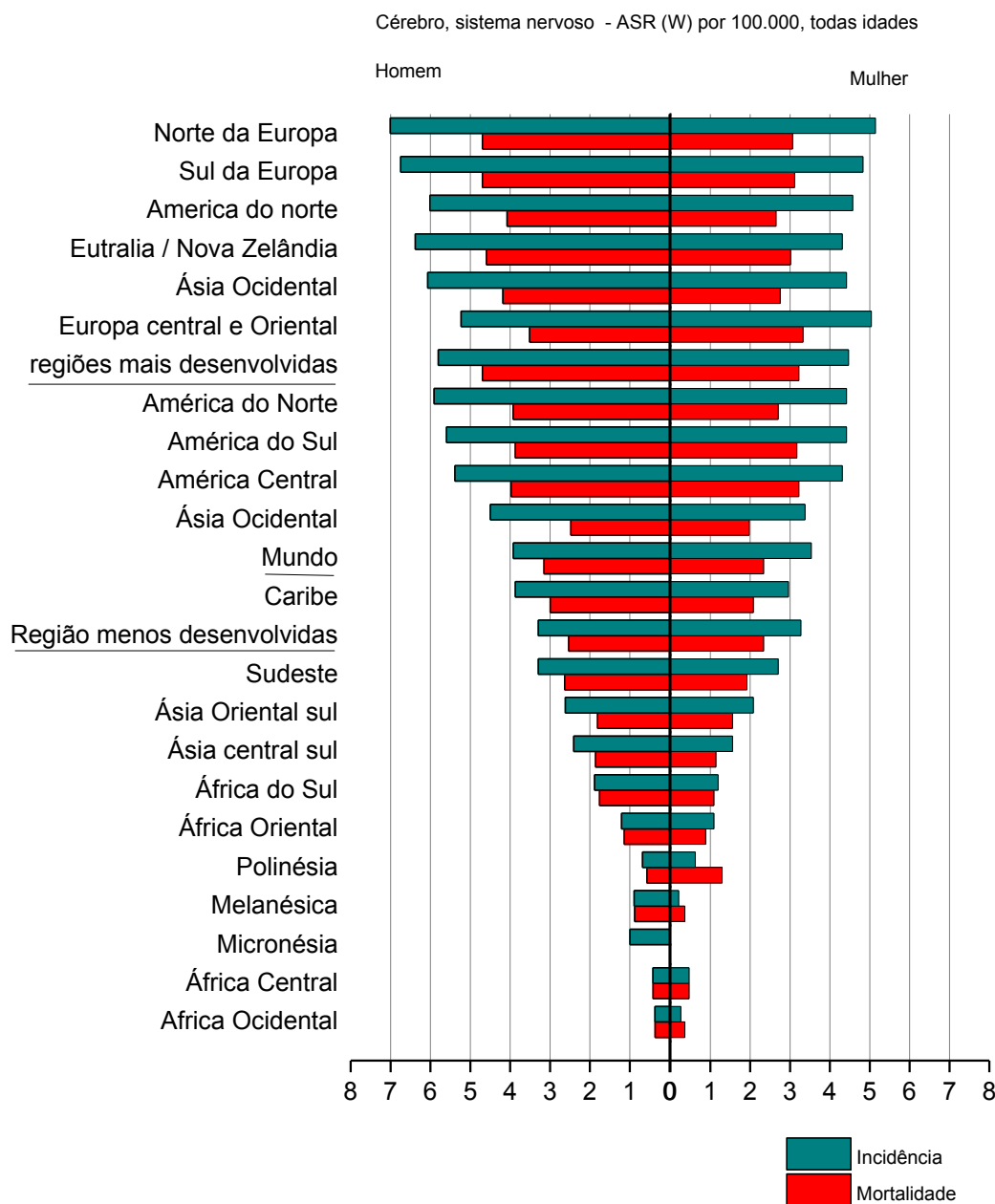


Figura 4. Distribuição dos tumores do SNC por 100.000 indivíduos, segundo o IDH (STEWART, BERNARD W; WILD, 2014).

Os tumores do SNC apresentam uma média de idade ao diagnóstico aproximada de 54 anos, mas existem diferenças relacionadas com fatores etiológicos e histológicos. Pode-se observar na figura 5 que os meningiomas aumentam sua incidência com a idade, com um declínio após os 85 anos de idade. Os astrocitomas e glioblastomas (GBMs)

apresentam um pico de incidência do diagnóstico entre 65 e 74 anos de idade e os oligodendrogliomas entre 35 e 44 anos (WRENSCH et al., 2002).

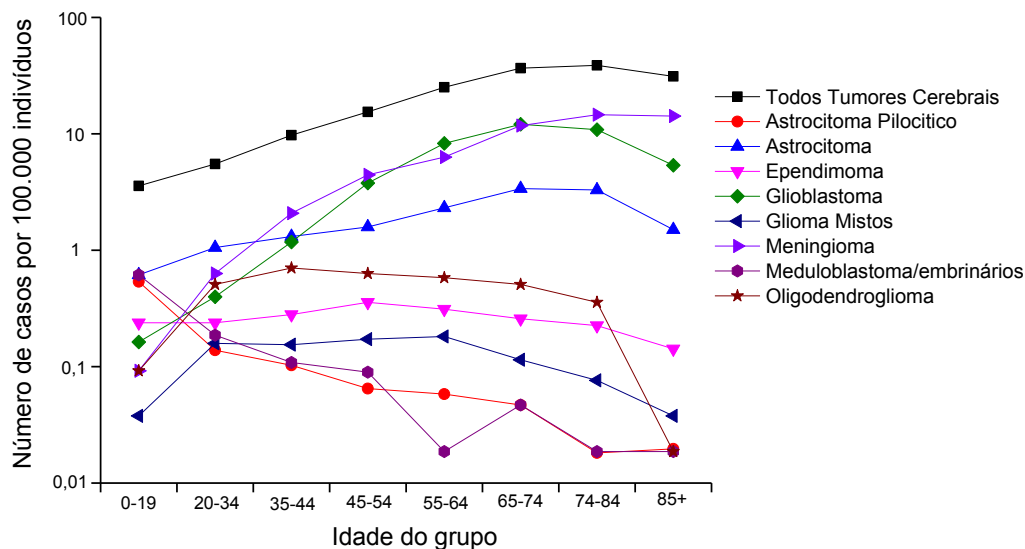


Figura 5. Incidência de tumores do sistema nervoso central segundo a faixa etária (WRENSCH et al., 2002) .

Dos tumores do SNC, os não malignos correspondem a 68,4% dos casos e destes, os meningiomas correspondem a histologia mais comum (36,7%). Os tumores malignos representam 31,5% dos casos e destes os gliomas são aproximadamente 80% (OSTROM et al., 2015)(OSTROM et al., 2016) (WRENSCH et al., 2002). Os astrocitomas são o subtipo histológico mais comum dos gliomas, com um predomínio estatístico dos astrocitomas de alto grau, seguido dos tumores oligodendrogliais (YAN et al., 2009). A distribuição destes tumores pode ser vista na figura 6.

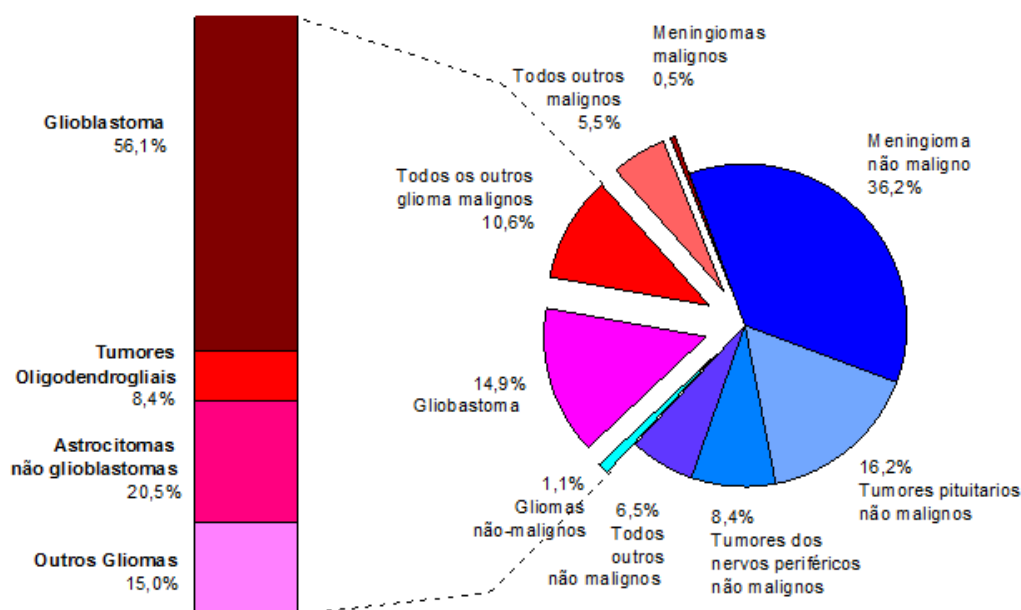


Figura 6. Distribuição dos subtipos de tumores do SNC (WRENSCH et al., 2002).

1.2 Classificação e patogênese

Os gliomas são tumores resultantes de processos errôneos de proliferação e diferenciação de células que compõe a neurógliia. Em condições normais, estas células ocupam os espaços entre os neurônios e tem como principal função oferecer suporte nutricional, sanguíneo, estrutural e de defesa aos neurônios (DANGELO, J.G; FATTINI, 2007). A neuroglia pode ser classificada em dois grandes grupos distintos morfológica e funcionalmente, de acordo com sua origem embriológica: a micróglia e a macróglia (RANSOM; KETTENMANN, 1990). A micróglia tem como principal função a defesa imune do SNC, sendo, em geral, recrutada após infecções, lesões ou doenças degenerativas do SNC. A macróglia compreende os oligodendrócitos, responsável pela mielinização dos axônios, os endotélio, células que revestem os ventrículos encefálicos e o canal central da medula; as células epiteliais pigmentares da retina; e as células do plexo coroide, presentes no interior dos ventrículos e que produzem o líquido cefalorraquidiano e os astrócitos, que desempenham uma série de funções essenciais para a homeostase do SNC, incluindo manutenção dos níveis iônicos do meio extracelular; captação e liberação de diversos neurotransmissores; participação na formação da barreira hematoencefálica; secreção de fatores tróficos essenciais para a sobrevivência e diferenciação dos neurônios,

direcionamento de axônios e formação e funcionamento das sinapses (GOMES; TORTELLI; DINIZ, 2013).

Os gliomas eram classificados até o ano de 2016 em graus de diferenciação, variando de Grau I a IV. Essa classificação em graus é baseada nas características histopatológicas das células tumorais, como índice mitótico, atipia nuclear, proliferação microvascular, características invasivas e capacidade de necrose. Os gliomas de grau I e II, chamados de baixo grau apresentam baixas taxas de proliferação e capacidade invasivas, enquanto os gliomas graus III e IV, também chamados de alto grau possuem alta capacidade proliferativa e de invasão de tecidos adjacentes e são altamente indiferenciados, o que lhes conferem, em geral, maior agressividade e pior prognóstico (LOUIS et al., 2007).

A nova classificação da OMS para os tumores do SNC, publicada em 2016, representada na tabela 2, diferenciou os tumores de acordo com sua origem embrionária, em tumores astrocíticos difusos e oligodendrogliais, outros tumores astrocíticos, tumores ependimais, tumores do plexo coroide, tumores neurais e neuro gliais , tumores da região pineal e embrionários, tumores de nervos craniais e para-espinhais, meningiomas, tumores mesenquimais, tumores melanocíticos, linfomas, tumores histiocíticos, tumores de células germinativas, tumores da região selar e tumores metastáticos. Fatores moleculares foram acrescentados à nomenclatura dos gliomas, com a inserção da mutação da isocitrato desidrogenase (IDH) e da Co deleção do cromossomo 1p19q, renomeando os tumores em astrocitomas pilocíticos (grau I); astrocitomas anaplásico IDH mutado (grau III) glioblastoma IDH tipo selvagem (grau IV), glioblastoma IDH mutado (grau IV), glioma difuso de linha média, H3K27M mutado (grau IV), oligodendrogliomas IDH mutado e 1p19q codeletados (grau II) e astrocitomas anaplásicos IDH mutados e oligodendrogliomas anaplásico IDH mutados, 1p19q codeletados (grau III), (LOUIS et al., 2016).

Tabela 2. Classificação da OMS para os tumores do SNC (LOUIS et al., 2016).

Astrocitomas difusos e tumores oligodendrogliais			
Astrocitoma Anaplásico, IDH mutado	III	Ganglioglioma e astrocitoma infantil desmoplásico	I
Glioblastoma, IDH tipo selvagem	IV	Tumor Glioneural papilar	I
Glioblastoma, IDH mutado	IV	Tumor Glioneural Rosett-forming	I
Glioma Difuso de linha média, H3K27M mutado	IV	Neurocitoma Central	II
Oligodendroglioma, IDH mutado e 1p19q codeletado	II	Neurocitoma extra ventricular	II
Oligodendroglioma Anaplásico, IDH mutado e 1p19q codeletado	III	Liponeurocitoma cerebelar	II
Outros tumores Astrocíticos		Tumores da região pineal	
Astrocitomas Pilocíticos	I	Pineocitoma	I
Astrocitoma subependimomas de células gigantes	II	Tumores do parênquima pineal ou diferenciação intermediária	II e III
Xantastrocitoma pleomorfo	II	Pineoblastoma	IV
Xantastrocitoma pleomórfico anaplásico	III	Tumor papilar da região pineal	II ou III
Tumores Ependimais		Tumores Embrionários	
Subependimoma	I	Meduloblastoma	IV
Ependimoma mixopapilar	I	TU embr com múltiplas camadas C19MC alterado	IV
Ependimoma	III	Meduloepitelioma	IV
Ependimoma RELA fuso positivo	II/III	Tumor embrionário do SNC, NOS	IV
Ependimoma anaplásico	III	Tumor teratoide/rabidoide atípico	IV
		Tumor embr. com fatores rabidoide	IV
Outros Gliomas		Tumores de nervos espinhais e paraespinhais	
Glioma Angiocêntrico	I	Schwannoma	I
Glioma Coróide do terceiro ventrículo	II	Neurofibroma	I
Tumores do Plexo coróide		Perineurinoma	I
Papiloma do plexo coróide	I	TU maligno da bainha do nervo periférico	II, III ou IV
Papiloma do plexo coróide atípico	II	Meningiomas	
Carcinoma do plexo coróide	III	Meningioma	I
Tumores gliais neuronais e mistos neuronais		Meningioma atípico	II
Tumor neuroepitelial desembrioblástico	I	Meningioma anaplásico	III
Gangliocitoma	I	TU mesenquimais, não meningoepiteliais	
Ganglioglioma	I	TU fibroso solitário/Hemangiopericitoma	I, II ou III
Ganglioma Anaplásico	III	Hemangioblastoma	I
Gangliocitoma displásico de cerebello	I	Tumores da região selar	
		Craniofaringeoma	I
		Tumor de célula granular	I
		Pituicitoma	I
		Oncocitoma de células do eixo	I

Os GBMs são a forma mais indiferenciada dos gliomas e podem ser subdivididos em primários ou secundários, segundo a sua origem histológica (figura 7). Os GBMs primários surgem de novo, a partir de uma célula sem previamente componente tumoral

desenvolvido, ou seja, sem evidências histológicas de lesão precursora. Os GBMs secundários se desenvolvem de uma lesão preexistente e progridem lentamente de lesões com graus de malignidade inferiores. Várias alterações genéticas importantes são determinantes para o desenvolvimento dos GBMs. Dados de *The Cancer Genome Atlas Research* forneceu informações sobre a patogênese e expressão molecular de genes dos GBMs e subdividiu em subtipos clássicos, mesenquimatosas, proneurais e neurais, de acordo com alterações genéticas e moleculares apresentadas. GBMs primários, ocorrem em cerca de 85 % dos casos, são mais frequentes em pacientes acima de 50 anos de idade, tem uma história de duração curta e apresentam pior prognóstico. Os GBMs secundários acometem indivíduos jovens, com longos períodos de evolução natural da doença e apresentam melhor prognóstico, se comparados aos primários (HANIF et al., 2017); (THE CANCER GENOME ATLAS RESEARCH, 2008).

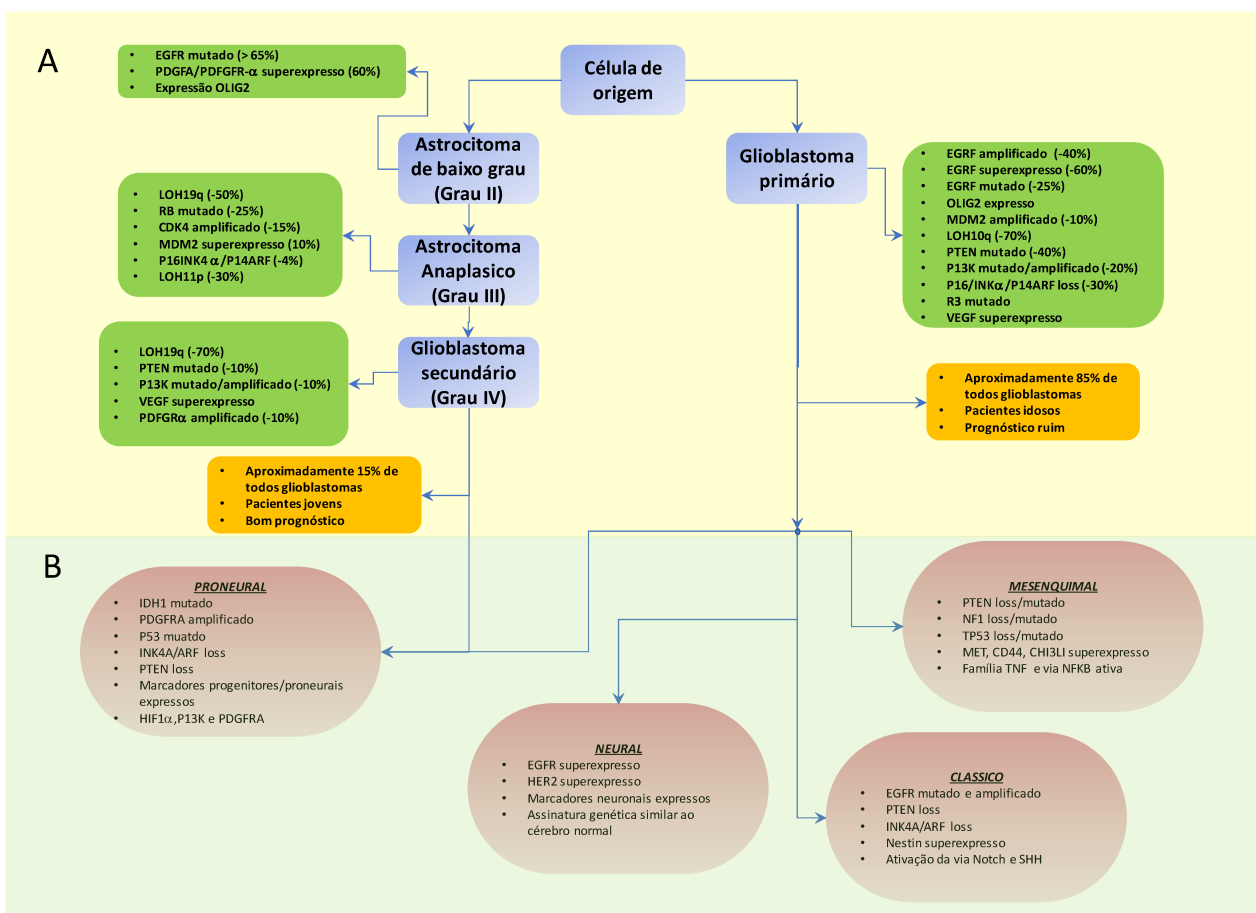


Figura 7. Patogênese Genética e Molecular de GBM. (A) alterações envolvidas em GBMs primários e secundários. (B) Subtipos de GBMs primários e secundários. Adaptado de (HANIF et al., 2017)

Os gliomas apresentam variadas taxas de morbidade e mortalidade, segundo a *Cancer Research UK*, cerca de 3 em cada 20 pessoas (14%) diagnosticadas com câncer de SNC na Inglaterra e no País de Gales sobrevivem a sua doença por dez anos ou mais, aproximadamente um quinto (19%) sobrevivem a sua doença por cinco anos ou mais. A sobrevida é maior nos homens do que nas mulheres no primeiro ano, mas similar em cinco e dez anos, geralmente diminui com a idade mais avançada no momento do diagnóstico e crianças e adultos jovens geralmente têm melhor sobrevida para a maioria das histologias (OSTROM et al., 2015). As taxas de sobrevida para os astrocitomas pilocíticos (grau I) em cinco anos é de 94,2 % e para o GBM é de 5.1%, com uma sobrevida mediana de 14 meses (RIEMENSCHNEIDER et al., 2010). Estudo do *Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) 9404* demonstrou grandes diferenças na sobrevida dos diferentes graus tumorais. A figura 8 mostra as curvas de sobrevida dos diferentes graus de gliomas, com sobrevida média longa nos tumores de baixo grau e curta nos GBMs (PRADOS et al., [s.d.]).

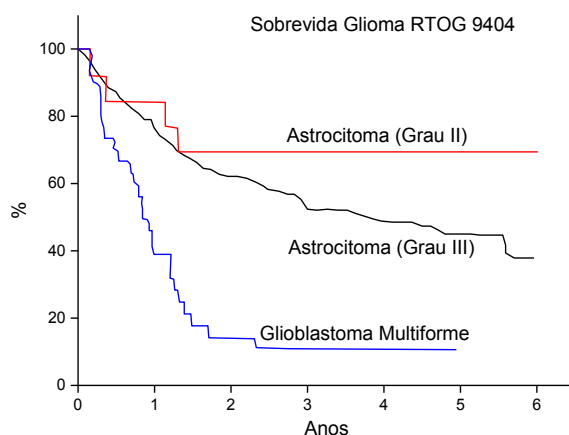


Figura 8. Curvas de sobrevida de pacientes com tumores cerebrais, segundo os diferentes graus de malignidade - RTOG 9404(PRADOS et al., [s.d.]).

1.3 Tratamento

O tratamento dos gliomas é baseado em 3 pilares terapêuticos: a cirurgia, a radioterapia e a quimioterapia, que isolados ou em associação conferem variadas taxas de resposta aos diferentes graus tumorais.

A ressecção cirúrgica é considerada padrão para o tratamento, vários estudos retrospectivos avaliaram o papel da extensão da ressecção tumoral sobre a resposta clínica, porém resultados de estudos randomizados controlados não são possíveis pela

impossibilidade ética do desenvolvimento da pesquisa, porém os dados sugerem que o grau de ressecção representa um impacto positivo na sobrevida e na história natural da doença, podendo ser um fator preditor independente de sobrevida.

Estudo prospectivo publicado na década de 90 do século passado, revelou que pacientes com volumes tumorais pré-operatórios de 10 a 30 cm³ tinham uma taxa de recorrência de 13,6% e tempo de progressão do tumor de 58 meses, enquanto tumores maiores de 30 cm³ tiveram recorrência de 41,2% e 30 meses de tempo para progressão tumoral ($p=0,016$) e revelou ainda que os pacientes que foram submetidos a ressecção cirúrgica completa não apresentaram recorrência no seguimento (média de 54 meses), enquanto que a taxa de recorrência aumentou a medida que a porcentagem da ressecção diminuiu. Pacientes com doença residual superior a 10 cm³ apresentaram maiores taxa de recorrência e menor tempo de progressão tumoral, se comparados com pacientes com volume residual tumoral menor que 10 cm³. Dos pacientes com volume de doença residual de mais de 10 cm³, 46% tiveram recorrência com tumor de maior grau histológico, e isso foi significativamente mais frequente do que os pacientes com um volume de doença residual inferior a 10 cm³ ($p= 0.0009$)(BERGER et al., 1994) .

Outra publicação demonstrou que pacientes com extensão de ressecção cirúrgica maior de 90% apresentam taxas de sobrevida global em 5 anos de 93%, enquanto aqueles com ressecção entre 70 e 90% apresentam sobrevida de 84% e os com ressecções menores que 70% sobrevida de 41%% em 5 anos (DELGADO-LÓPEZ et al., 2017). Assim guidelines europeus sugerem para os gliomas de baixo grau tratamento cirúrgico com ressecção tumoral máxima e precoce (SOFFIETTI et al., 2010).

A radioterapia tem papel fundamental no tratamento dos pacientes com diagnóstico de glioma, sendo considerada o tratamento adjuvante padrão para os gliomas de baixo grau de alto risco, assim como no tratamento das recidivas ou no tratamento primário dos tumores irresssecáveis de baixo e alto grau, isolada ou associada a quimioterapia (LECAVALIER-BARSOUM; QUON; ABDULKARIM, 2014); (KARIM et al., [s.d.]); (RYKEN et al., 2015).

Comparando a realização de radioterapia adjuvante e nenhum tratamento pós cirúrgico e considerando os efeitos adversos secundários da radioterapia a longo prazo e a taxas de recorrência e sobrevida, os pacientes com maior probabilidade de progressão (idade acima de 40 anos, tamanho pré-operatório do tumor maior que 5 cm³, ressecção parcial, histologia astrocítica, falta de coleção de 1p19q e falta de mutação IDH) parecem

beneficiar-se melhor da radioterapia do que pacientes de baixo risco (BUCKNER et al., 2016).

Diversos estudos avaliaram as doses de radioterapia adjuvante para os gliomas de baixo grau e os resultados mostraram que altas doses de radiação estão relacionadas com altas taxas de necrose, sem conseqüente benefício em sobrevida com doses acima de 54 Gy (KARIM et al., [s.d.]) (PIGNATTI et al., 2002) (SHAW et al., 2002). O padrão para adjuvância em gliomas de baixo grau de alto risco (idade acima de 40 anos, ressecção parcial, histologia astrocítica, tumor pré operatório maior que 5 cm e baixo KPS) é radioterapia precoce, com dose de 54 Gy, o que determina aumento de sobrevida livre de progressão (5.3 anos versus 3.4 anos) se comparado à observação pós cirúrgica, sem diferença no tempo de sobrevida global (KARIM et al., [s.d.]) (VAN DEN BENT et al., [s.d.])

O papel da quimioterapia nos pacientes de baixo grau está definido para os casos de alto risco (menos de 40 anos de idade e ressecção cirúrgica parcial). Dados do RTOG 9802, que comparou pacientes submetidos a radioterapia isolada versus radioterapia associada a quimioterapia com Procarbazine, CCNU e Vincristina (PCV) mostraram que pacientes que receberam radioterapia associada a quimioterapia tiveram sobrevida global mediana mais longa do que aqueles que receberam radioterapia isolada (13,3 anos versus 7,8 anos, razão de risco para a morte, 0,59; $P = 0,003$). Em 10 anos, a taxa de sobrevida livre de progressão foi de 51% no grupo que recebeu radioterapia associada a quimioterapia versus 21% no grupo que recebeu radioterapia isolada; as taxas correspondentes de sobrevida global aos 10 anos foram de 60% e 40% (BUCKNER et al., 2016). Esquemas de quimioterapia com PCV e Temozolamida (TMZ) produzem taxas similares de resposta e duração da resposta (10-24 meses), com um menor perfil de toxicidade favorecendo a TMZ (SOFFIETTI et al., 2010).

Para os pacientes com diagnóstico de gliomas de alto grau, a atual recomendação é de expandir a terapêutica para além do tratamento específico, oferecendo precocemente efetivo suporte clínico e de controle de sintomas (HANIF et al., 2017). Tratamento específico para GBM envolve ressecção cirúrgica, radioterapia e quimioterapia com TMZ (200 mg/m² nos dias 1–5 durante 28 dias por 6 ciclos combinada com radioterapia hipofracionada (34 Gy em frações de 3.4 Gy durante 2 semanas ou radioterapia padrão (60 Gy administrada em frações de 2.0 Gy durante 6 semanas. A associação de radioterapia com TMZ demonstrou sobrevida média de 14,6 meses versus 12,1 meses no tratamento com radioterapia isolada e taxa de sobrevida em 2 anos de 26,5% versus 10,4% ($p < 0.001$)

comparando a combinação e a radioterapia exclusiva (WELLER et al., 2005)(MALMSTRÖM et al., 2012).

1.4 Diagnóstico

Avanços nas técnicas de neuroimagem proporcionaram especial atenção aos tumores cerebrais. Embora os gliomas possam ser vistos em exame de tomografia computadorizada (TC), as lesões aparecem como imagens hipointensas e mal definidas. A ressonância magnética de encéfalo (RM) é o método de escolha para a avaliação imagiológica dos gliomas cerebrais. Gliomas de baixo grau são vistos na RM como imagens hipointensas na sequência T1 e hiperintensas em sequencias T2 / FLAIR. Os gliomas de alto grau, se mostram na sequência T1 hipointensos se comparados ao tecido cerebral normal, se contrastam após a infusão do gadolínio e frequentemente revelam edema perilesional nas sequencias T2 ou Flair (KAO et al., 2013) (PUROHIT; KAMLI; KOLLIAS, [s.d.]

Sequencias funcionais de RM como espectroscopia protônica, difusão e perfusão, traduzem alterações bioquímicas, estruturais e vasculares inerentes a transformação neoplásica, permitindo melhorar a caracterização da fisiologia e metabolismo dos tumores de forma não invasiva, melhorando os diagnósticos e a detecção de recorrência precoce, determinando de forma mais exata o grau de malignidade, além de permitir exatidão na localização de alvos para biópsias estereotáxicas e tratamentos com radio cirurgias (GRAÇA et al., 2003).

O exame histopatológico foi considerado por longo tempo padrão para a classificação e gradação dos gliomas, no entanto, estes possuem um comportamento clínico variável e grandes diferenças com relação ao prognóstico e a sobrevida dos pacientes. A necessidade de se correlacionar as características das células tumorais com o prognóstico e estabelecer uma melhor adequação terapêutica promoveu avanços nos estudos sobre alterações genéticas e epigenéticas apresentadas por essas neoplasias (WRENSCH et al., 2002) (WU et al., 2015).

Assim Como a maioria dos tumores, as células dos gliomas apresentam alterações genéticas que se acumulam com o decorrer da progressão tumoral, incluindo deleções e amplificações de regiões cromossômicas, mutações genéticas, metilações ou desmetilações de ácido desoxirribonucleico (DNA) e de histonas (RIEMENSCHNEIDER et al., 2010). A supressão do gene *Tumor protein 53* (TP 53) na maioria dos astrocitomas, a deleção combinada do cromossomo 1p/19q nos oligodendrogliomas e a hipermetilação da

região promotora do gene Metilguanina DNA-metiltransferase (MGMT) nos glioblastomas são alterações já bem conhecidas e estudadas (BRANDNER; VON DEIMLING, 2015) (JENKINS et al., 2006).

A partir da década de 80 do século passado, as descobertas acerca do papel da Isocitrato Desidrogenase (IDH) e de outras moléculas no mecanismo funcional de alguns gliomas alterou a maneira de se avaliar, classificar e prever resultados sobre os gliomas. A classificação tumoral além de histopatológica, atualmente apresenta um componente molecular e genético, capaz de avaliar com melhor precisão as características de cada lesão neoplásica (LOUIS et al., 2016). Os gliomas podem ser classificados e diagnosticados segundo perfis moleculares (figura 9).

A avaliação da status da mutação IDH1 pode ser determinada por métodos de DNA ou por exame de imuno-histoquímica. As vantagens da imuno-histoquímica se dão pela fácil implementação na maioria dos laboratórios de patologia, tempo e eficiência de custos, com alto poder de especificidade e resultados. A imuno-histoquímica é um método diagnóstico de interação entre antígenos e anticorpos. Anticorpos monoclonais podem ser usados para a imuno-histoquímica da mutação isocitrato desidrogenase (anti-IDH1-R132H) e os resultados se apresentam como colorações citoplasmáticas diversas na presença ou na ausência da interação entre o antígeno e o anticorpo

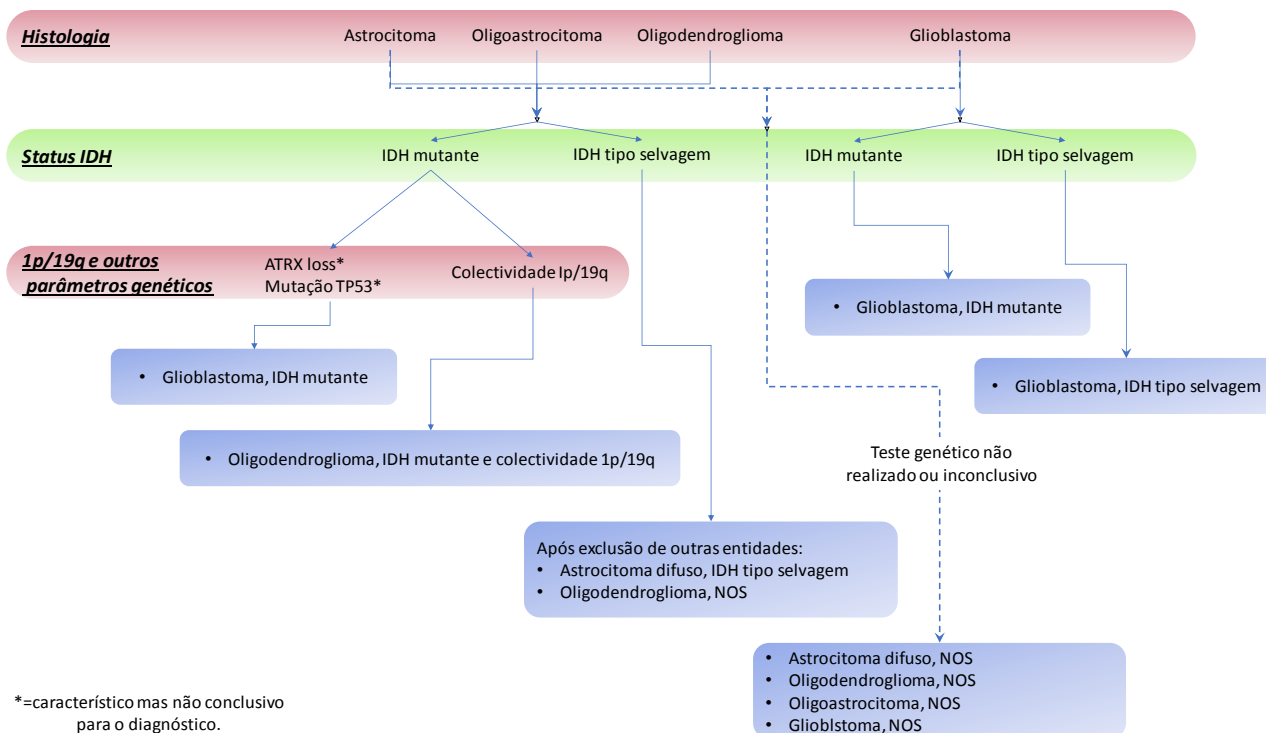


Figura 9. Algoritmo para classifica o e diagnóstico dos gliomas difusos baseado em fatores histológicos e genéticos (LOUIS et al., 2016).

1.5 Muta o IDH1 e tumorigênese

Importantes informa es sobre o papel do gene da IDH nas vias metabólicas celulares e conseqentemente no complexo desenvolvimento das neoplasias estão sendo relatadas. Muta es na codifica o do gene humano da IDH estão aparentemente relacionadas com o intricado mecanismo de desenvolvimento de alguns tumores cerebrais (PARSONS et al., 2008).

Esta muta o   encontrada em 90% dos astrocitomas grau II, 84% dos oligodendroglomas grau II, 100% dos oligoastrocitomas grau II. Nos tumores alto grau, está presente em 73% dos astrocitomas anaplásicos (grau III), 94% dos oligodendroglomas anaplásicos (grau III), 100% dos oligoastrocitomas anaplásicos (grau III) e em 85% dos GBMs secundários. Raramente   observada nos GBMs primários (5% dos casos) e não   encontrada em astrocitomas grau I e ependimomas (YAN et al., 2009).

São codificadas cinco proteínas IDH no genoma humano (IDH1, IDH2, IDH3A, IDH3B E IDH3G). O gene da proteína IDH1   localizado no cromossomo 2q33.3 e o gene da IDH2   localizada no cromossomo 15q26.1 (GUPTA et al., 2011). A proteína IDH1   encontrada nos peroxisomos, citoplasma e reticulo endoplasmático, enquanto as IDH2 e IDH3 são

encontradas nas mitocôndrias (GEISBRECHT; GOULD, 1999). Aproximadamente 90% das mutações que ocorrem no gene IDH são vistas no gene da IDH1 e 3 a 5% no gene da IDH2 (GUPTA et al., 2011).

Na mutação da IDH1 ocorre uma alteração da base nitrogenada guanina por uma adenina na posição 395 da transcrição IDH1 (G395A), conduzindo à substituição de um arginina por uma histidina no resíduo de aminoácido 132 da proteína (R132H) (PARSONS et al., 2008). Na proteína IDH2, que apresenta um funcionamento similar a IDH1, a mutação ocorre na sequência de aminoácidos R172 (CHEN et al., 2016).

O complexo de proteínas IDH atua no mecanismo do Ciclo de Krebs, catalisando a descarboxilação oxidativa da isocitrato em α -cetoglutarato (α -KG), resultando na produção de NADPH reduzido (Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato) a partir de NADP⁺. Em condições normais, os efeitos da reação da IDH1 previnem danos celulares decorrentes de estresse oxidativo, regula modificações epigenéticas e estabiliza desmetilações de histonas, favorecendo o controle de proliferação celular. A mutação da enzima, desregula estas reações, causando redução dos níveis de NADPH, aumentando os níveis de D-2-hidroxi-glutarato, como demonstrado na figura 10.

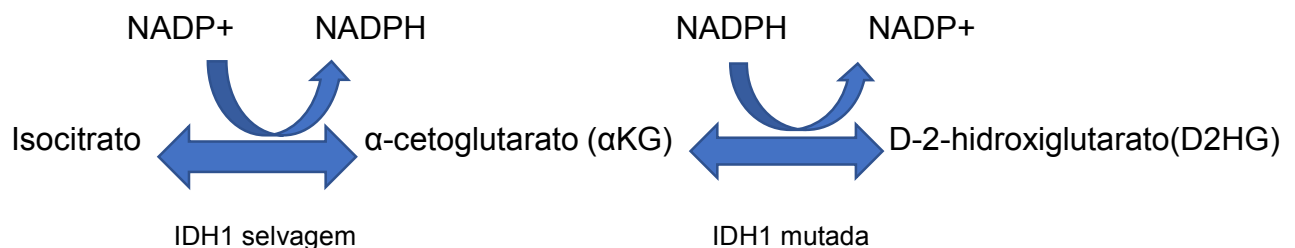


Figura 10. Formas ativas da atividade das enzimas IDH1 selvagem e IDH1 mutada (WAITKUS; DIPLAS; YAN, 2016).

A mutação IDH1 é um evento precoce na tumorigênese, ocorre antes de outras mutações, como a mutação TP53 e a codeleção do cromossomo 1p19q. Ainda permanece desconhecido se a mutação IDH1 por si é capaz de desencadear o processo tumoral ou se são necessários outros eventos para iniciar a tumorigênese, sabe-se que há um longo período de latência e penetrância incompleta de tumores, sugerindo que apenas a mutação IDH1 não seja suficiente para dirigir o processo neoplásico (WAITKUS; DIPLAS; YAN, 2016)

O NADPH é fator essencial para a restauração da glutatona, um tripeptídeo com função antioxidante vital no organismo humano. A presença de radicais livres está relacionada com vários processos fisiológicos celulares e o desequilíbrio entre a formação

e a remoção desses radicais livres, decorrente da diminuição dos antioxidantes endógenos ou do aumento da geração de espécies oxidantes, gera um estado pró-oxidante chamado de estresse oxidativo que favorece a ocorrência de lesões oxidativas em macromoléculas e estruturas celulares, incluindo o aumento de lesões em níveis de bases de DNA. O funcionamento adequado das reações da glutatona é fundamental para os mecanismos enzimáticos de defesa contra os agentes radicalares (JÚNIOR et al., 2001). Na presença da mutação IDH1, ocorre diminuição da produção do NADPH, que por sua vez reduz a ação da glutatona, com conseqüente redução dos processos anti-oxidantes, elevação dos danos celulares oxidativos, contribuindo para processos mutagênicos e desenvolvimento de tumores. A capacidade de produção de NADPH, pela atividade de IDH1, foi estimada em 65%, contudo, a presença da mutação reduz essa produção para 38% somente (BLEEKER et al., 2010).

A α -KG é imprescindível para a enzima prolil hidroxilase promover a estabilização da HIF-1 α (Fator indutor de hipóxia), que induz a expressão de Glut1 (transportador de glicose1), VEGF (Fator de crescimento endotelial vascular) e PGK1 (Cinase 1 Fosfoglicerato), que são importantes fatores na expressão de genes envolvidos no metabolismo da glicose, angiogênese, motilidade celular e invasão, assim como, genes envolvidos em vias de sinalização, críticos para o crescimento das células. A presença da mutação IDH1 desestabiliza o HIF-1 α , resultando em proliferação celular e predisposição a formação de tumores (GUPTA et al., 2011).

O D2HG é considerado um oncometabólito responsável por muitos efeitos biológicos da mutação IDH1. Ele regula modificações epigenéticas, que estão relacionadas a reações nas fitas do DNA, garantindo corretos processos de duplicação e replicação. Com a mutação IDH1 reduz-se a produção de α -KG e a atividade da enzima mutada neoformada leva à produção de D2HG. Altas concentrações deste oncometabólito inibem competitivamente as enzimas metilase histona lisina e a família das enzimas TET metilcitosina hidroxilase que são fundamentais para o processo de regulação das alterações epigenéticas intranucleares, elevando as probabilidades de alterações genéticas e desenvolvimento de células neoplásicas. Além disso, o aumento da D2HG altera também a estabilização do HIF-1 α por meio de endostatinas, induzindo alterações oncogênicas (GUPTA et al., 2011)(POLLARD; RATCLIFFE, 2009).

Assim pessoas com deficiência na enzima IDH1 apresentam leucoencefalopatias e têm um risco aumentado de desenvolvimento de tumores cerebrais devido a várias alterações, como a diminuição da geração de NADPH, a redução dos níveis de α -KG,

desestabilização de HIF-1 α e acúmulo de D-2-hidroxi-glutarato no tecido cerebral (ZHAO et al., 2009) (BLEEKER et al., 2010)

O mecanismo exato pelo qual as mutações em IDH1 e IDH2 alteram a oncogênese nos gliomas ainda é motivo de muitos estudos. A figura 11, expõe o complexo mecanismo das vias metabólicas que envolvem a proteína IDH1 e os efeitos da presença da enzima selvagem e mutada na fisiologia celular.

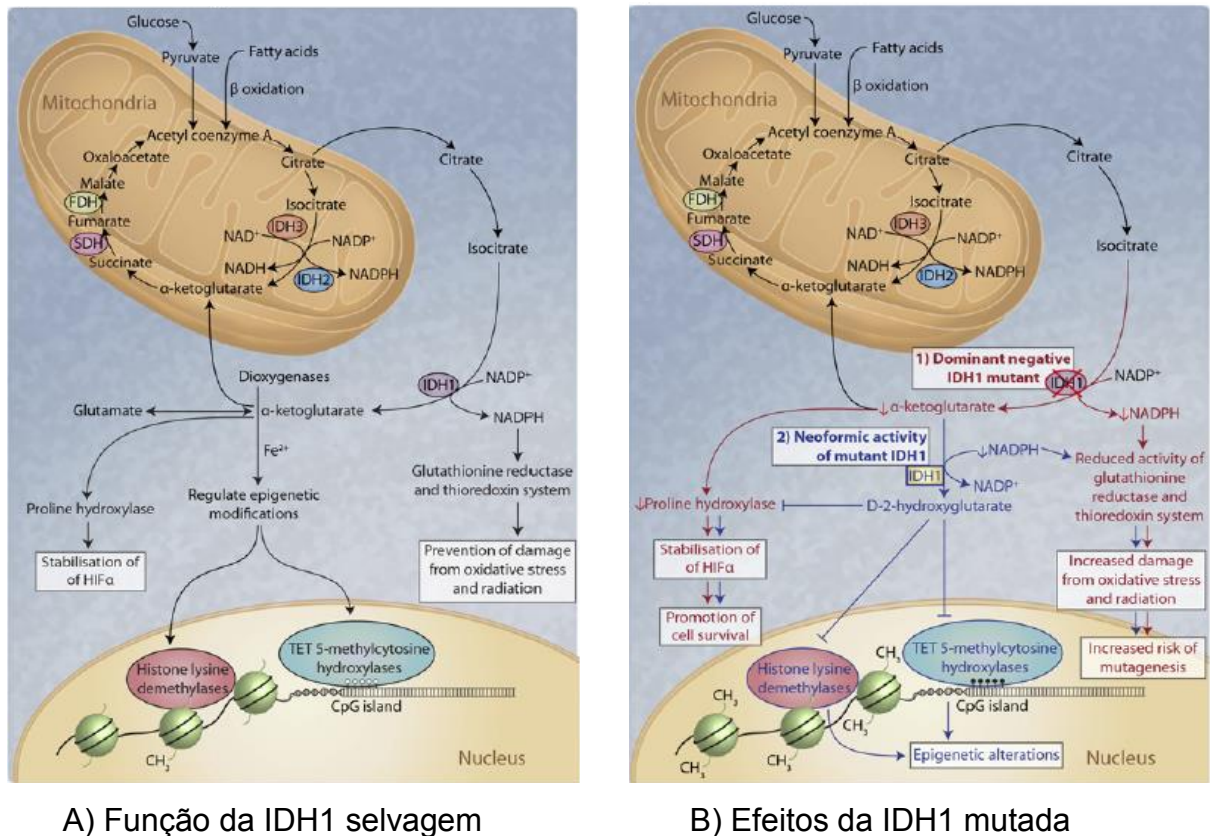


Figura 11. Representação da função normal (A) e mutada (B) da IDH1 no ciclo de Krebs (GUPTA et al., 2011).

O clássico estudo do Dr. Parson (2008) demonstrou que a mutação IDH1 em pacientes com GBM é um fator de prognóstico favorável, determinando aumento de sobrevivência global média, de 1.1 ano nos pacientes sem a mutação e de 3.8 anos em pacientes mutados ($P < 0.001$) (PARSONS et al., 2008). Estudos subsequentes, analisando todo o espectro de gliomas difusos, ressaltaram a associação entre a mutação IDH1 e melhor prognóstico, revelando-se com um forte e independente marcador prognóstico favorável em gliomas mutados (NOBUSAWA et al., 2009);(SANSON et al., 2009);(DUBBINK et al., 2009). Recente revisão sistemática e meta análise publicada por um grupo chinês que avaliou 165 estudos, concluiu que pacientes com GBM com a mutação

IDH apresentam melhor prognóstico com melhor sobrevida global do que pacientes sem a mutação (CHEN et al., 2016).

O papel prognóstico da mutação IDH1 nos astrocitomas difusos e nos oligodendrogliomas foi também avaliado por Iwadate et al, que avaliaram noventa e quatro pacientes por um período médio de 8,5 anos. Para os astrocitomas difusos a presença da mutação IDH1 foi significativa para a sobrevida global. No entanto, para tumores oligodendrogliais nenhum dos parâmetros foi significativo para sobrevida livre de progressão ou sobrevida global (IWADATE et al., 2015).

Permanece desconhecida a resposta sobre como a presença da mutação IDH1 confere, por si só um melhor prognóstico aos pacientes. Uma das teorias possíveis é que a redução dos níveis de NADPH, provocada pela mutação, com sua consequente elevação de estresse oxidativo, promova danos ao DNA da célula tumoral recém-formada, induzindo apoptose e morte celular, impedindo a multiplicação e proliferação das células neoplásicas. Este conceito, tem sido conhecido como a grande controvérsia da mutação IDH1, podendo ser traduzida como “bater e correr”, ou seja, o NADPH parece ser o fator que contribui para a iniciação da tumorigênese, mas também é responsável por interromper o processo de desenvolvimento tumoral, fornecendo aos pacientes com glioma mutados menores taxas de proliferação celular e assim melhores taxas de sobrevida (HAN; BATCHELOR, 2017)

1.6 **Mutação IDH1 e tratamento com radioterapia**

Vários estudos têm sido desenvolvidos para avaliar a relação da mutação IDH1 e o tratamento adjuvante. Sichen Li et al estudou a expressão da mutação IDH1(R132H) e IDH2(R172K) em células de GBM e demonstrou aumento da sensibilidade à radiação e supressão do crescimento e migração das células tumorais mutadas, fornecendo conceitos sobre possíveis mecanismos de resposta ao tratamento com radioterapia em pacientes com IDH1 / 2 mutados (WRENSCH et al., 2002) (LI et al., 2013).

Foi também demonstrado que níveis elevados de D-2-hidroxi-glurato em alguns gliomas tornam as células mais vulneráveis à quimioterapia e à radiação (DANG et al., 2009)(GOMES; TORTELLI; DINIZ, 2013) (FU et al., 2010). A deficiência de IDH1 ou IDH2 leva a aumento da peroxidação lipídica, aumenta danos oxidativos ao DNA , aumenta a geração de peróxido intracelular e diminuiu a sobrevivência de linhagens celulares de fibroblastos após a exposição a agentes oxidantes. (LEE et al., 2002)(CHEN et al., 2016)(ZHAO et al., 2009)

A avaliação da mutação do gene IDH1 e a sensibilidade da radioterapia em condições de hipóxia constatou que em situações de hipóxia, que sabidamente aumenta a radio resistência, a presença da mutação também é um fator de radiosensibilidade (JIANG et al., 2017); (WANG et al., 2014). A mutação influencia a proliferação, crescimento de células em cultura, migração, sobrevivência e radio sensibilidade in vitro das células sob condições de normóxia (21 % de O₂) e hipóxia (< 1 % de O₂), a sobre expressão da mutação em células de glioma resulta em ligeiro decréscimo da proliferação e migração celular, além demonstrar um consistente aumento da radio sensibilidade nos gliomas (IWADATE et al., 2015) (KESSLER et al., 2015).

Permanece em investigação o papel exato da relação entre a mutação IDH1 e o aumento da sensibilidade à radiação ionizante e estudos tem sido desenvolvidos para a elucidação desta questão.

A radioterapia tem sua ação terapêutica através de dois efeitos radiobiológicos. O efeito direto da radiação, que representa 30% da ação, se constitui da interação da radiação diretamente com a fita de DNA, proteínas e lipídeos. O efeito indireto da radiação, que representa 70% do mecanismo radiobiológico, ocorre pela interação de elétrons livres com as moléculas do meio, principalmente com a água, produzindo radicais livres oxidantes. Essas espécies reativas interagem com as proteínas, alterando sistemas de transdução de sinais mediados por enzimas, interagem com os cromossomos causando aberrações cromossômicas e com as membranas celulares causando peroxidação lipídica com o enfraquecimento e rompimento de membranas plasmáticas, resultando em morte celular (HAN; BATCHELOR, 2017).

O aumento da sensibilidade a radiação nos gliomas mutados parece ser explicado por dois fatores associados. Primeiro, sabe-se que a mutação IDH1 reduz a produção de NADPH, diminui a síntese de glutathione e reduz a proteção das células contra o stress oxidativo, predispondo a morte celular tumoral. Segundo as células de glioma submetidas a radioterapia apresentam aumento dos níveis de radicais livres, decorrentes da radiação ionizante. Assim, nas células mutadas irradiadas, há grande aumento do estresse oxidativo associado a reduzida capacidade de atividade antioxidante resultando em mortalidade celular tumoral com melhora dos resultados ao tratamento (YAN et al., 2009).

Tendo em vista as atuais descobertas de que os tumores gliais têm em geral melhor prognóstico quando a mutação IDH1 está presente e que a mutação é potencialmente um marcador de melhor resposta ao tratamento com radioterapia, o presente estudo pretende contribuir de forma científica para a avaliação prognóstica da presença da mutação IDH1 e

sua relação no tratamento com a radioterapia, iniciando discussões que contribuirão para o desenvolvimento de futuros protocolos e condutas terapêuticas embasadas na resposta tumoral desses tumores ao tratamento com radioterapia

2 JUSTIFICATIVA

O presente estudo se justifica pelo grande impacto social que o diagnóstico de glioma traz aos pacientes, familiares e esfera social, com uma redução de capacidade produtiva emocional e financeira dos doentes envolvidos. Altos custos de diagnóstico e tratamento são imbuídos a esses tumores, sem, no entanto, grandes avanços nas taxas de resposta e sobrevida. Assim sendo, estudos que avaliem o papel de um fator, que interfira na evolução natural desta doença se torna imprescindível. Os conhecimentos acerca do papel da mutação IDH1 e sua associação com a sobrevida e com a radioterapia podem ser usados para desenvolvimento de manejos clínicos, com individualização dos tratamentos, baseados em fatores moleculares, resultando em resultados terapêuticos mais eficazes para esses pacientes.

3 OBJETIVOS

3.1 **Objetivo geral**

O principal objetivo deste trabalho foi avaliar se há alteração na sobrevida global dos pacientes submetidos ao tratamento com radioterapia, de acordo com o status da mutação IDH1.

3.2 **Objetivos específicos**

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- 1) Identificar o perfil epidemiológico dos pacientes, determinando sexo, idade, exame realizado para o diagnóstico, subtipo histológico, a localização topográfica das lesões e a extensão da ressecção cirúrgica.
- 2) Identificar a presença da mutação IDH1 nos diferentes subtipos de glioma, de baixo ou de alto grau.
- 3) Avaliar se há associação entre a presença da mutação IDH1 e a localização anatômica das lesões.
- 4) Avaliar se a sobrevida está relacionada com a dose de radioterapia nos pacientes com a mutação.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta de dados

A presente pesquisa, trata-se de um estudo retrospectivo, quantitativo, a partir da avaliação e coleta de dados obtidos em revisões de prontuários e laudos anatomopatológicos de pacientes diagnosticados com glioma (CID C71) no HC-UFU, no período de janeiro de 2005 a julho de 2016.

Foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da UFU, sendo aprovado em 21 de março de 2017 com o Número de Parecer: 1.974.468. No concernente aos princípios éticos da pesquisa, este trabalho não comprometeu a integridade física, moral ou social dos participantes. Um Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) – (Anexo 8.1) foi fornecido aos participantes que ainda estão em acompanhamento no Setor de Oncologia, solicitando autorização para a consulta ao prontuário e informando sobre a pesquisa, seus benefícios e riscos. Todos os custos financeiros da pesquisa foram de responsabilidade dos pesquisadores e não há nenhum conflito de interesse, além do conhecimento científico para o desenvolvimento do presente estudo.

Por se tratar de estudo retrospectivo, através da coleta e análise de prontuários médicos e laudos anatomopatológicos existia o risco de identificação do participante, que foi minimizado pela não utilização e divulgação do nome, endereço, número de prontuário ou número da biópsia do participante. Os participantes foram identificados através de números cardinais, de forma aleatória, sem qualquer correspondência com sua identificação. Toda a equipe de pesquisadores está ciente do exposto no Artigo 75 do Capítulo IX – Sigilo Profissional, do Código de Ética Médica (CFM, 2009), garantindo que de maneira alguma os dados de identificação dos participantes sejam revelados ou publicados.

Nos prontuários analisados, foram coletadas informações como sexo, idade, subtipo histológico, localização anatômica da lesão tumoral, realização de radioterapia e tempo de sobrevivência dos pacientes após o diagnóstico. Do total de prontuários, foram utilizados como critérios de inclusão para a análise da hipótese, os casos de pacientes com diagnóstico de glioma, com a lâmina e o bloco de histologia disponíveis para análise e que foram submetidos a tratamento com radioterapia no HC-UFU. Foram excluídos da amostra os pacientes que não tinham diagnóstico de glioma, os que não possuíam prontuário médico, bloco ou lâmina de histologia disponíveis, os que faleceram por causas não relacionadas à progressão tumoral, os pacientes que realizaram radioterapia em outro serviço de saúde e os pacientes que fizeram quimioterapia em algum momento do tratamento. Os informes

patológicos que necessitaram de complementação dos dados, foram submetidos à revisão (releitura) das lâminas para confirmação da classificação da lesão glial, assim como para a identificação do status da mutação IDH1.

Os pacientes foram submetidos a tratamento com radioterapia exclusiva, em Acelerador Linear de elétrons CLINAC 600C da Varian® ou Acelerador Linear de elétrons PRECISE da Elekta®, com energia de emissão de fótons de 6 MV, com técnica isocêntrica, em planejamentos convencionais (2D) ou conformacionais (3D).

4.2 Análise histopatológica e imuno-histoquímica

Os blocos e as lâminas de histologia dos participantes foram separados e demarcados em cada uma delas, nas regiões de maior predomínio de células neoplásicas, duas áreas circulares de 1 mm cada, como demonstrado na figura 12.A. As lâminas e os blocos com as demarcações foram enviados para o Laboratório de Patologia do Hospital Amaral Carvalho- SP, onde foi realizada a técnica de *Tissue Microarray Technology* (TMA). Com a técnica do TMA, os fragmentos tumorais de todos os pacientes, extraídos das demarcações nos blocos, além de uma amostra tecidual para controle, foram incluídos em uma única lâmina, permitindo avaliar de forma rápida e menos dispendiosa todas as amostras. A TMA, é uma ferramenta que permite analisar alterações genômicas, de RNA e padrões de expressão de proteínas, interpretando inúmeros conjuntos de dados, em curto período de tempo, determinando uma caracterização imuno-histoquímica muito detalhada dos tecidos (PACKEISEN et al., 2003). A figura 12.B mostra o bloco de TMA com os 20 fragmentos de tecidos tumorais dos pacientes da amostra.

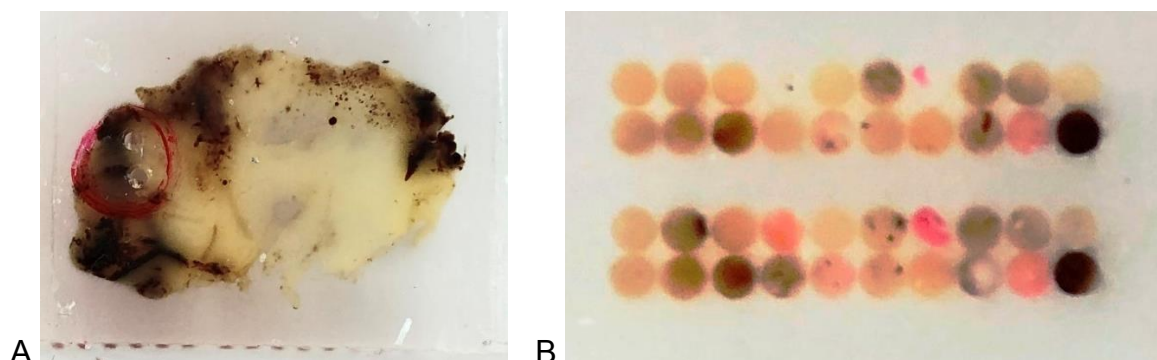


Figura 12.A). Bloco de histologia de um tecido cerebral de um dos pacientes, com a região da alteração celular tumoral delimitada com um círculo vermelho. B). Bloco após a realização do TMA, com os fragmentos de todos os 20 casos participantes.

Após realizado o bloco de TMA, uma lâmina foi desenvolvida e submetida a coloração de Hematoxilina-Eosina (HE) para confirmação histológica das lesões amostradas. posteriormente, outra lâmina foi submetida a técnica de imuno-histoquímica para a pesquisa da alteração genética da mutação IDH1. Inicialmente, houve a desparafinação da lâmina em xilol, com hidratação em soluções aquosas de etanol, foi feita a recuperação antigênica com solução em ácido cítrico 10 mm³ e ph 6.0 em três ciclos de cinco minutos, em forno de micro-ondas, em potência máxima. Após resfriamento e lavagem em água destilada, foi realizado o bloqueio da atividade da peroxidase endógena com peróxido de hidrogênio, em dois banhos de dez minutos cada, seguidos por lavagens em água destilada e novos banhos em solução salina tamponada com fosfato. Então, os cortes foram incubados com o anticorpo primário IDH1, conforme apresentado na tabela 3, diluído em solução de albumina bovina a 1% em câmara úmida por 18 horas, a 4°C. Após a incubação com o anticorpo primário, foi realizada três lavagens em solução de TRIS, seguindo-se por incubação com sistema de amplificação conjugado com peroxidase (LSAB+, DAKO) por 30 minutos em temperatura ambiente, seguindo-se três lavagens em tampão TRIS. Em seguida, a reação foi revelada com substrato cromogênico pré diluído (3,3' diaminobenzidina, Sigma) por 5 minutos em temperatura ambiente, seguido por lavagens em água corrente e finalmente em água destilada. As amostras na lâmina foram então contra coradas com hematoxilina de Harris por 5 minutos e lavadas em água corrente. Finalmente, os cortes foram desidratados em três banhos de álcool absoluto, seguido pela diafanização em xilol por 10 minutos, mais 10 minutos em novo xilol e montagem das lamínulas com bálsamo de Canadá.

Tabela 3. Especificação do anticorpo a ser utilizado para identificação da mutação.

Especificidade	Clone	Característica biológica	Hipótese para presença da mutação
IDH1	Anti-IDH1	Interesse primário	Positividade citoplasmática

A figura 13.A mostra a lâmina de histologia com as amostras obtidas da técnica do TMA, após a coloração com HE. A figura 13.B mostra a lâmina após a reação imuno-histoquímica para a identificação da presença da mutação IDH1.

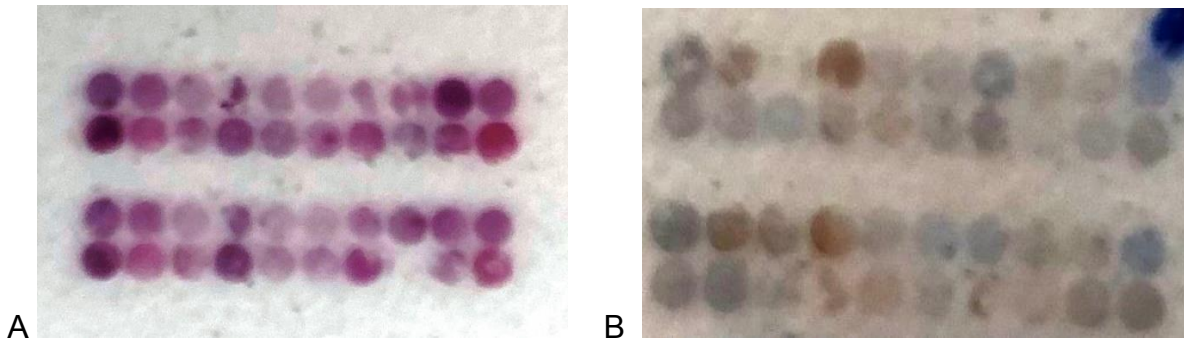


Figura 13.A). Lâmina corada em HE com cortes obtidos do bloco de TMA. B). Lâmina corada pela técnica de imuno-histoquímica com reação para IDH1, com cortes obtidos do bloco de TMA.

Para a análise da reatividade imuno-histoquímica foi utilizado um microscópio de luz, sendo considerada como reação positiva a presença da coloração acastanhada escura no citoplasma. A figura 14 mostra uma reação imuno-histoquímica positiva para a mutação IDH1, com a coloração acastanhada no citoplasma. A figura 15 mostra a reação negativa para a mutação IDH1, onde não de evidencia a coloração citoplasmática acastanhada escura.

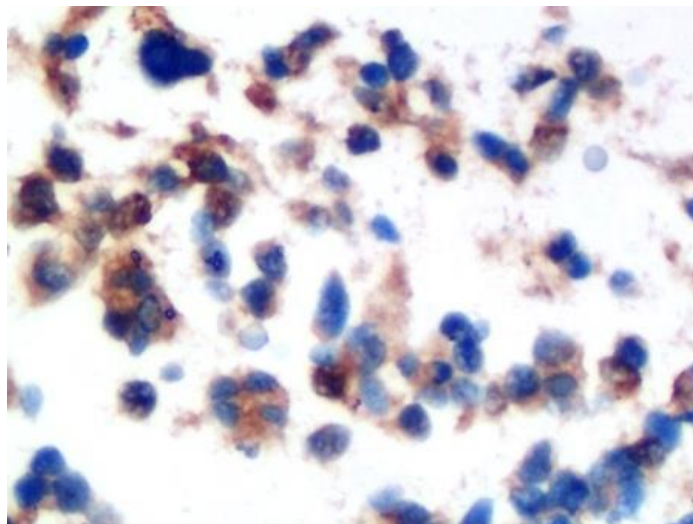


Figura 14. Reação imuno-histoquímica positiva para a mutação IDH1.

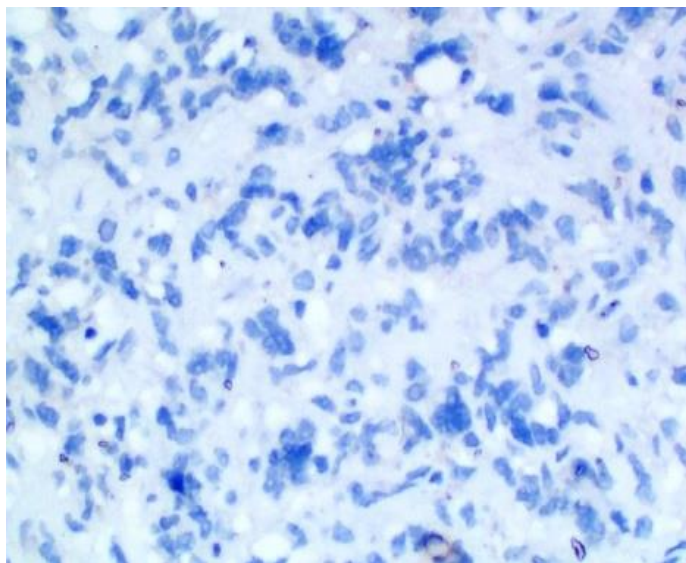


Figura 15. Reação imuno-histoquímica negativa para a mutação IDH1.

4.3 Análise estatística

A amostra foi calculada utilizando o Sistema G Power* 3.1.9.2, com um tamanho de efeito de 0.5, considerado probabilidade de erro de 0.05 e poder de teste de 90%. As variáveis quantitativas foram descritas por média e desvio padrão e as qualitativas por frequências absolutas e relativas. Para comparar médias, o teste t-student foi aplicado. Na comparação de proporções, os testes qui-quadrado de Pearson ou exato de Fisher foram aplicados. As curvas de sobrevivência foram estimadas pelo método de Kaplan-Meier e as variáveis associadas ao óbito foram analisadas de forma univariada e multivariada pela Regressão de azares proporcionais de Cox. O critério para a entrada da variável no modelo multivariado foi que a mesma apresentasse um valor $p < 0,20$ na análise univariada. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$) e as análises foram realizadas no programa SPSS versão 21.0.

5 RESULTADOS

Foram avaliados 185 (cento e oitenta e cinco) prontuários médicos de pacientes com diagnóstico de glioma que receberam tratamento entre janeiro de 2005 a dezembro de 2016 no HC-UFU. Foram resgatadas informações sobre sexo, idade, diagnóstico histopatológico, localização anatômica da lesão, extensão da ressecção cirúrgica, realização de radioterapia, dose de radioterapia e sobrevida global dos pacientes.

Dos 185 prontuários identificados, 38 tinham diagnóstico de tumores que não foram caracterizados como gliomas. Do total de biópsias mencionadas, 64 foram realizadas em serviço de saúde externo ao HC-UFU. Vinte e dois pacientes não tinham biópsia anexadas ao prontuário, 16 pacientes realizaram tratamento com radioterapia fora do HC-UFU e 97 pacientes foram submetidos a tratamento com quimioterapia associada a radioterapia ou a informação sobre a quimioterapia não era conhecida, 52 participantes apresentaram 2 ou mais dos critérios de exclusão. Considerando os critérios de inclusão e exclusão citados na metodologia foram selecionados para investigação e análise das hipóteses diagnósticas 20 pacientes, como demonstrado na figura 16.

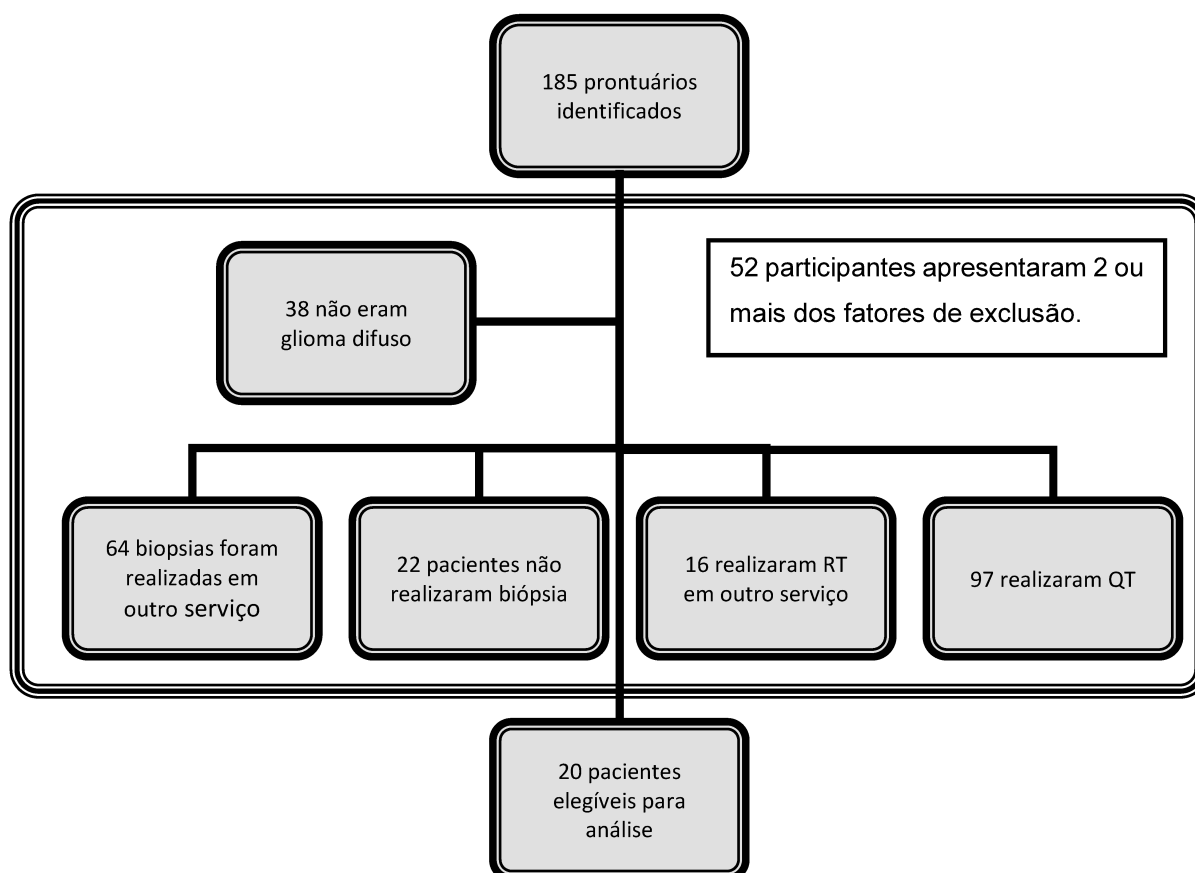


Figura 16. Diagrama de seleção da população do estudo.

A tabela 4 mostra as características dos pacientes analisados e a associação com a mutação IDH 1.

Tabela 4. Características dos pacientes amostrados e associações com a mutação IDH1.

Variáveis	Com mutação IDH1 (n=9)	Sem mutação IDH1 (n=11)	P
Idade (anos) – Média ± DP	44,9 ± 15,4	51,8 ± 15,3	0,328
Sexo – n (%)			1,000
Masculino	6 (66,7)	7 (63,6)	
Feminino	3 (33,3)	4 (36,4)	
Diagnóstico – n (%)			0,050
Glioma difuso de alto grau	4 (44,4)	10 (90,9)	
Glioma difuso de baixo grau	5 (55,6)	1 (9,1)	
Localização* – n (%)			
Frontal Direito	4 (44,4)	3 (27,3)	0,642
Parietal Direito	1 (11,1)	3 (27,3)	0,591
Temporal Direito	2 (22,2)	0 (0,0)	0,189
Frontal Esquerda	2 (22,2)	1 (9,1)	0,566
Parietal Esquerdo	2 (22,2)	3 (27,3)	1,000
Temporal Esquerdo	0 (0,0)	1 (9,1)	1,000
Occipital Esquerdo	2 (22,2)	1 (9,1)	0,566
Dois hemisférios	0 (0,0)	1 (9,1)	1,000
Outros	0 (0,0)	1 (9,1)	1,000
Ressecção cirúrgica – n (%)			0,431
Biopsia	3 (33,3)	2 (18,2)	
Parcial	4 (44,4)	8 (72,7)	
Total	2 (22,2)	1 (9,1)	
Dose radioterapia (cGy) – n (%)			0,010
<3060	1 (11,1)	8 (72,7)	
>3060	8 (88,9)	3 (27,3)	
Óbito – n (%)	6 (66,7)	11 (100)	0,074

* questão de múltipla resposta. *Localização anatômica da lesão tumoral no parênquima cerebral.

A tabela 4 demonstra as variáveis que se relacionaram ou não com a mutação IDH1. A amostra foi constituída principalmente por pacientes do sexo masculino e idade média de 48,7 anos. A mutação IDH1 estava presente em 45% dos participantes. Dos pacientes mutados, 55,6% eram gliomas infiltrativos de baixo grau. Os tumores se localizaram em diversas regiões do parênquima cerebral, com predomínio das lesões mutadas no lobo frontal direito (44,4%), enquanto as lesões sem a mutação se localizaram igualmente no lobo frontal direito, parietal direito e parietal esquerdo (27,3%). A ressecção parcial foi a abordagem cirúrgica mais comum tanto nos pacientes mutados quanto nos pacientes IDH selvagens. Verificou-se na tabela 4 que não houve associação das variáveis idade, sexo, localização do tumor e ressecção cirúrgica com a presença da mutação ($p > 0,05$). Na

análise univariada, houve uma tendência de significância entre o óbito e a ausência da mutação ($p=0,074$) e evidenciou-se uma associação significativa entre o diagnóstico e a mutação ($p=0,05$) e entre a dose de radioterapia e a mutação IDH1 ($p=0,01$).

A tabela 5, mostra as análises das variáveis que se associaram ou não com o óbito.

Tabela 5. Análise de Regressão de Cox univariada e multivariada para avaliar fatores independentemente associados ao óbito.

Variáveis	Univariada			Multivariada		
	Hazard Ratio	IC 95%	P	Hazard Ratio	IC 95%	p
Idade (anos)	1,06	1,02-1,09	0,004	1,02	0,95-1,09	0,562
Sexo Masculino	1,15	0,40-3,29	0,792	-	-	-
Diagnóstico						
Glioma difuso de alto grau	3,81	1,18-12,3	0,026	10,4	0,84-128	0,068
Glioma difuso de baixo grau	1,00	-	-	1,00	-	-
Localização						
Frontal Direito	0,59	0,21-1,67	0,318	-	-	-
Parietal Direito	1,60	0,51-5,04	0,424	-	-	-
Temporal Direito	1,06	0,24-4,74	0,943	-	-	-
Frontal Esquerda	1,12	0,25-5,09	0,879	-	-	-
Parietal Esquerdo	0,86	0,28-2,67	0,791	-	-	-
Temporal Esquerdo	1,88	0,23-15,1	0,553	-	-	-
Occipital Esquerdo	0,50	0,11-2,24	0,363	-	-	-
Dois hemisférios	1,02	0,13-7,93	0,982	-	-	-
Ressecção cirúrgica						
Biopsia	4,90	0,52-46,4	0,166	30,9	0,53-1807	0,098
Parcial	4,00	0,51-31,6	0,188	12,6	0,47-339	0,132
Total	1,00	-	-	-	-	-
Dose radioterapia (cGy)<3060	8,52	2,44-29,7	0,001	1,52	0,20-11,7	0,688
Sem mutação IDH	0,28	0,09-0,82	0,020	0,63	0,13-2,93	0,694

No modelo univariado sem ajustes, notou-se que as variáveis associadas com óbito foram: idade avançada, diagnóstico de glioma difuso de alto grau, dose de radioterapia <3060 cGy e ausência da mutação IDH. Não foi identificada associação da sobrevida com a localização da lesão tumoral ou com a extensão da ressecção cirúrgica, e após o ajuste pelo modelo multivariado, nenhuma variável manteve associação significativa com o óbito. Os pacientes com diagnóstico de glioma difuso de alto grau apresentaram 3,81 vezes mais chance de morrer do que os pacientes com glioma de baixo grau ($p=0,026$). A análise das sobrevidas médias obtidos por método de Kaplan- Meier, mostrou que nos gliomas grau II, a sobrevida média foi de 52,75 meses, os pacientes com GBM apresentaram sobrevida média de 13,22 meses e os gliomas grau III de 11,33 meses.

Com relação a radioterapia, as doses de tratamento variaram de 360 cGy a 6120 cGy, com dose média de 4218 cGy. 45% dos pacientes receberam doses de radiação menores que 3060 cGy, como demonstrada na figura 17. Aproximadamente 90% dos pacientes com a mutação receberam doses maiores que 3060 cGy enquanto que dos pacientes sem a mutação 27% receberam doses acima deste valor. A análise univariada da dose, mostrada na tabela 2, revela aumento do risco de morte 8,52 vezes nos pacientes que receberam dose de radioterapia menor que 3060 cGy ($p=0,001$). Identificou-se que a média de sobrevida dos pacientes que receberam doses menores que 3060 cGy foi de 4,833 meses versus 42,709 meses dos pacientes que receberam doses maiores que 3060 cGy. A mediana também demonstrou benefício com sobrevida mediana de 3 meses versus 48 meses para os pacientes que receberam doses maiores, entretanto na observação multivariada essa razão não se manteve estatisticamente significativa ($p=0,688$).

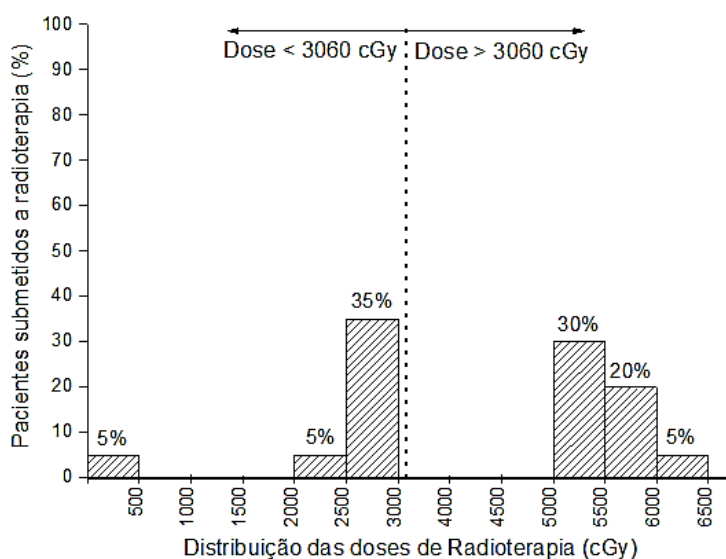


Figura 17. Distribuição das doses de radioterapia realizadas, utilizando como dose de referência o valor médio entre 0 e 6120 cGy (3060 cGy).

A presença da mutação IDH1 foi identificada como um fator protetor na análise univariada, conferindo benefício de sobrevida aos pacientes mutados (HR 0,28; IC 0,09-0,82; $p=0,020$), mas a análise multivariada não manteve esta variável como fator independente ($p=0,694$). As curvas de sobrevida dos pacientes com e sem a mutação são apresentadas na figura 18. Na figura 18A são demonstrados ainda os pacientes censurados, ou seja, os pacientes que ainda estão vivos e cuja taxa de sobrevida não ainda ser calculada.

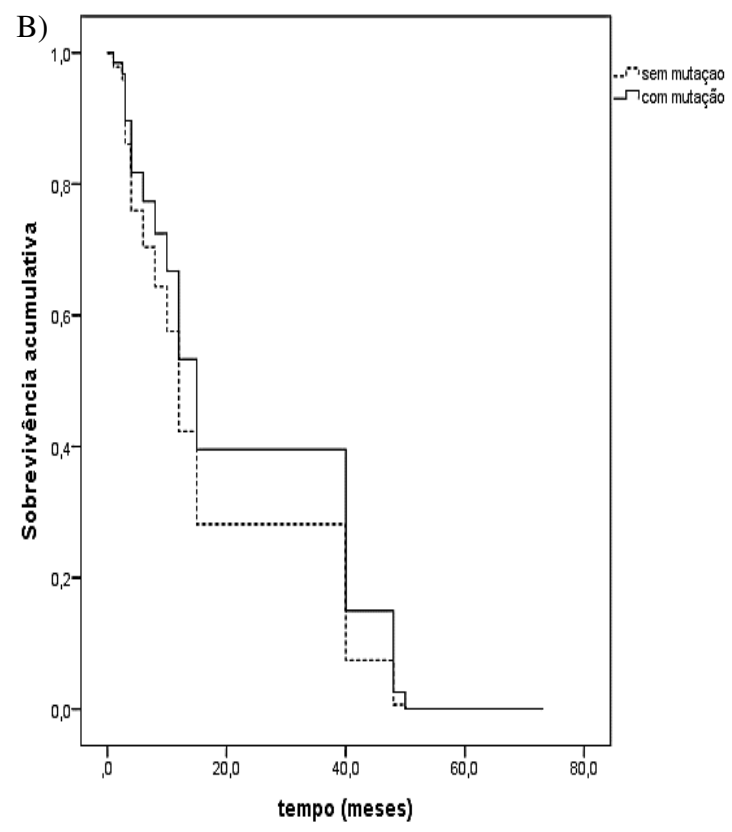
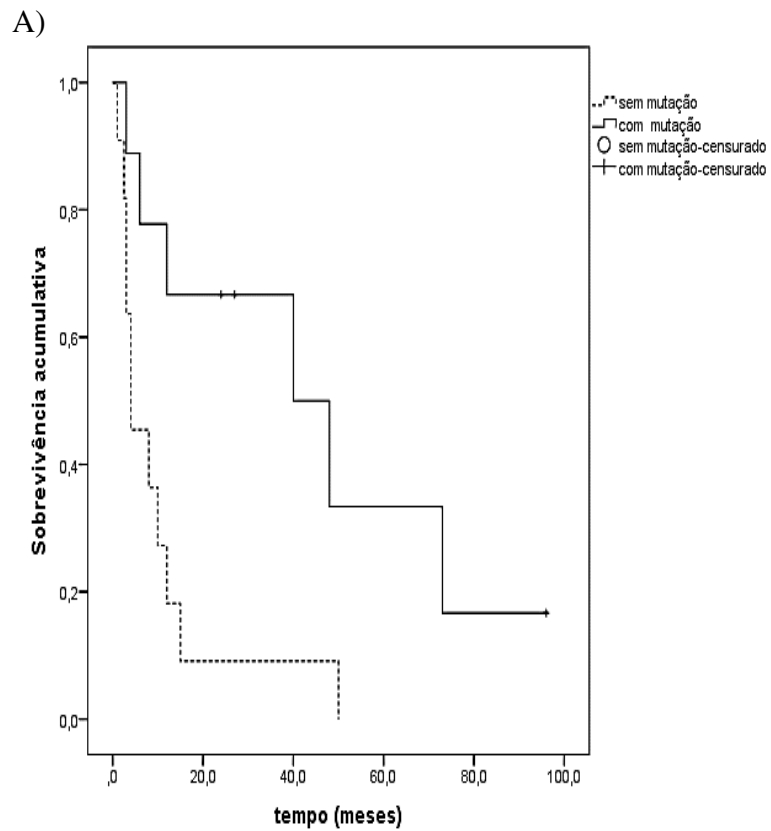


Figura 18. Curva de sobrevida pelo método de Kaplan-Meier conforme mutação IDH sem ajuste (A) e com ajuste pelo modelo multivariado (B)

A interação entre a dose de radioterapia, a mutação e a sobrevida foi testada e os dados apresentados na tabela 6. Quando avaliada a interação, sem ajuste, os pacientes com alta dose e com a mutação apresentaram menos chance de óbito e foram considerados como referência, os pacientes com baixa dose (<3060 cGy) e com mutação apresentaram um risco 10,8 vezes – (HR 10,8; IC 2,62-44,5; p 0,001) maior de óbito quando comparados com os com dose >3060 cGy e com mutação. Também aqueles com baixa dose e sem mutação apresentaram um risco 21,3 vezes – (HR 21,3; IC 1,73-2,63; p 0,017) maior de óbito quando comparados com os com dose mais elevada e com mutação. No entanto, após o ajuste, as associações não permaneceram significativas.

Tabela 6. Análise de Regressão de Cox univariada e multivariada para avaliar fatores independentemente associados ao óbito considerando interação entre dose da radioterapia e mutação.

Variáveis	Univariada			Multivariada		
	Hazard Ratio	IC 95%	P	Hazard Ratio	IC 95%	p
Idade (anos)	1,06	1,02-1,09	0,004	1,03	0,95-1,12	0,455
Sexo Masculino	1,15	0,40-3,29	0,792	-	-	-
Diagnóstico						
Glioma difuso de alto grau	3,81	1,18-12,3	0,026	8,41	0,63-112	0,107
Glioma difuso de baixo grau	1,00	-	-	1,00	-	-
Localização						
Frontal Direito	0,59	0,21-1,67	0,318	-	-	-
Parietal Direito	1,60	0,51-5,04	0,424	-	-	-
Temporal Direito	1,06	0,24-4,74	0,943	-	-	-
Frontal Esquerda	1,12	0,25-5,09	0,879	-	-	-
Parietal Esquerdo	0,86	0,28-2,67	0,791	-	-	-
Temporal Esquerdo	1,88	0,23-15,1	0,553	-	-	-
Occipital Esquerdo	0,50	0,11-2,24	0,363	-	-	-
Dois hemisférios	1,02	0,13-7,93	0,982	-	-	-
Ressecção cirúrgica						
Biopsia	4,90	0,52-46,4	0,166	17,5	0,18-1671	0,219
Parcial	4,00	0,51-31,6	0,188	9,51	0,31-293	0,198
Total	1,00	-	-	1,00	-	-
Dose (cGy) x Mutação						
Dose>3060 e com mutação	1,00	-	-	1,00	-	-
Dose>3060 e sem mutação	2,21	0,49-9,96	0,303	2,22	0,30-16,3	0,433
Dose<3060 e com mutação	10,8	2,62-44,5	0,001	2,37	0,35-15,9	0,375
Dose<3060 e sem mutação	21,3	1,73-263	0,017	2,66	0,16-45,0	0,499

A figura 19 mostra as curvas de sobrevida dos pacientes, conforme a interação entre a dose de radioterapia (< 3060 cGy ou maior que 3060 cGy) e o status da mutação IDH, na avaliação univariada (A) e multivariada (B).

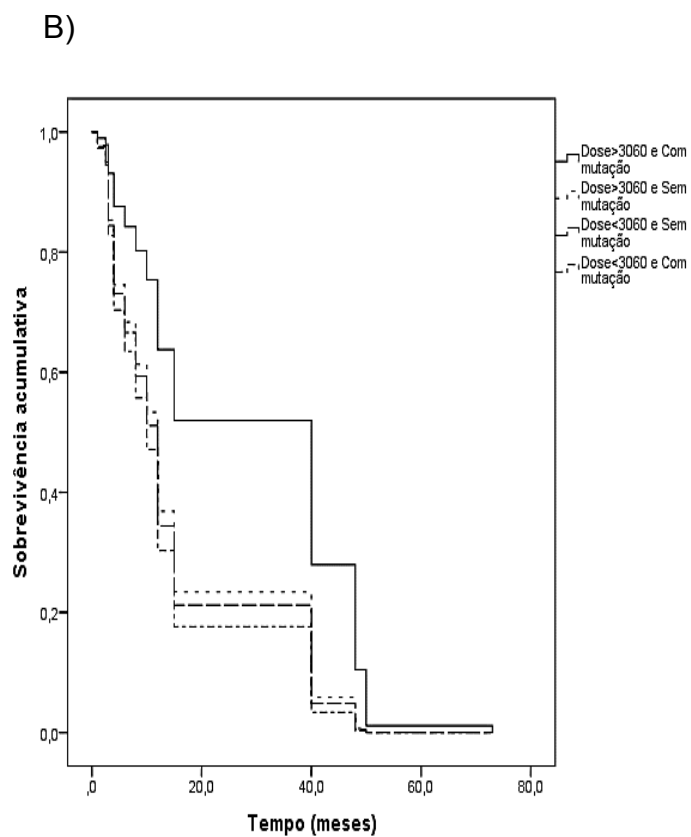
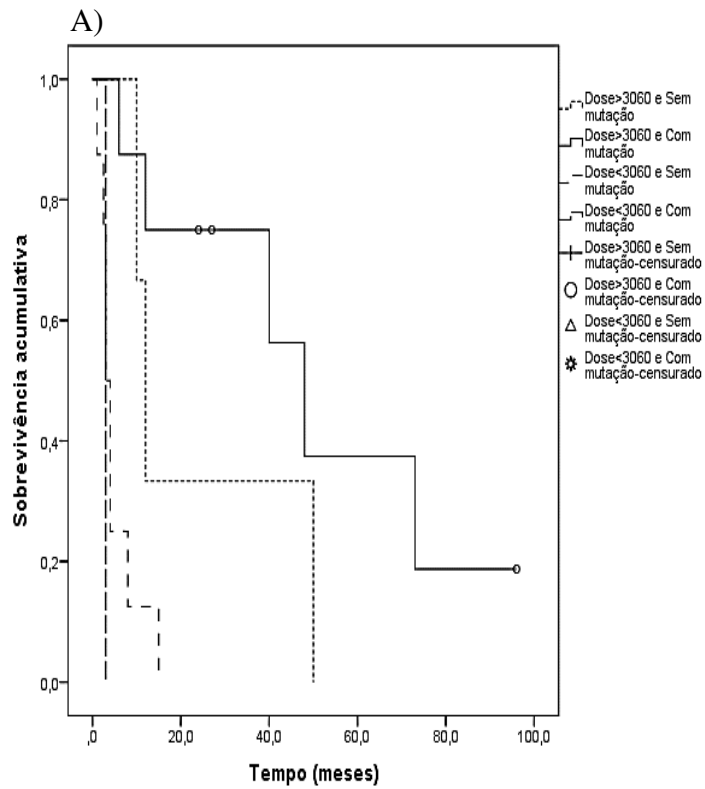


Figura 19. Curva de sobrevida pelo método de Kaplan-Meier conforme interação entre dose da radioterapia e mutação sem ajuste (A) e com ajuste pelo modelo multivariado (B).

As curvas de sobrevida dos pacientes, conforme a interação entre a dose de radioterapia (< 3060 cGy ou maior que 3060 cGy) e o status da mutação IDH demonstram no modelo univariado o aparente ganho de sobrevida nos pacientes que receberam doses maiores e que tinham a mutação IDH1 e ao contrário a reduzida sobrevida nos pacientes que receberam doses baixa e não apresentaram a mutação. Na figura 19A nota-se as distâncias entre as curvas, evidenciando um risco de 2,21 mais chance de morrer nos pacientes submetidos a altas doses, mas sem a mutação. Demonstra ainda que comparando pacientes com a mutação, mas que receberam doses menores de radioterapia, a chance de morte foi 10,8 vezes maior. As curvas do modelo ajustado ainda mantêm uma tendência de benefício para os pacientes que receberam maior dose e com a presença da presença da mutação, porém agora sem significância estatística.

6 DISCUSSÃO

Neste estudo os pacientes apresentaram dados epidemiológicos semelhantes aos descritos na literatura, como o predomínio dos tumores no sexo masculino e idade média aproximada de 50 anos ao diagnóstico (Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil, 2017) (OSTROM et al., 2015). Não houve diferença significativa na sobrevida entre homens e mulheres em relação ao status da mutação IDH1 e a idade demonstrou ser um fator de risco na análise univariada, porém sem correspondência na avaliação multifatorial.

A localização topográfica das lesões em pacientes com GBM segundo a presença da mutação IDH1 foi observada em um estudo retrospectivo e observou-se que nos pacientes sem a mutação IDH1, 43% das lesões se localizavam em região temporal, 35% frontal, 20% parietal e 2% occipital. Nos pacientes com a mutação IDH1 o predomínio foi de 50% em região temporal, 36% em região frontal e 14% em região parietal (DE QUINTANA-SCHMIDT et al., 2015). Semelhante ao descrito por Jiang et al., nos tumores com a mutação IDH1 as lesões foram mais frequentes nos lobos frontais, porém não foi encontrada qualquer associação entre a localização das lesões e a sobrevida nesta pesquisa (JIANG et al., 2017).

Alguns estudos retrospectivos citam a extensão da ressecção cirúrgica como fator prognóstico favorável, afirmando que ressecções maiores que 90% conferem maior sobrevida global e menor taxa de recorrência (DELGADO-LÓPEZ et al., 2017). Nosso estudo não evidenciou papel significativo estatístico da extensão cirúrgica em relação a sobrevida.

A dose padrão para a radioterapia adjuvante em gliomas de baixo grau é de 4500 cGy a 5400 cGy (VAN DEN BENT et al., [s.d.]) e de 6000 cGy em gliomas de alto grau (NELSON et al., 1988) (KARIM et al., [s.d.]). Neste estudo, 45% dos pacientes receberam doses abaixo de 3060 cGy. A análise univariada da dose demonstrou melhora da sobrevida em pacientes que foram submetidos a doses maiores que 3060 cGy ($p=0,001$), porém a avaliação multivariada não manteve esta relação ($p=0,373$). Em geral, doses equivalentes a 3000 cGy são destinadas a pacientes com quadro clínico muito deteriorado e com prognóstico de vida reservado (ROA et al., 2004). Sabendo que quase metade dos pacientes recebeu doses próximas a esse valor e considerando que o perfil clínico é sabidamente um fator de risco (não avaliado neste estudo por deficiência de informações nos prontuários) pode-se talvez inferir que os mesmos apresentavam condição clínica muito ruim ao diagnóstico e que mesmo na presença da mutação IDH1 o benefício esperado da sobrevida não tenha se expressado.

Assim como descrito na literatura a sobrevida média e mediana relacionada com a mutação mostrou uma tendência de melhora nos pacientes mutados. Estudos prévios demonstraram média de sobrevida em pacientes com GBMs mutados de 31 meses versus 15 meses nos pacientes sem a mutação (PARSONS et al., 2008) (COHEN; HOLMEN; COLMAN, 2013), nos pacientes deste estudo a sobrevida média foi de 36.16 meses nos IDH1 mutados versus 17.35 meses nos IDH1 selvagens. Avaliando de forma univariada a presença da mutação IDH1, confirmou-se a mutação como um fator de proteção para os pacientes mutados.

Apesar dos dados conflitantes entre a análise univariada e multivariada da interação entre a dose de radioterapia, a mutação e a sobrevida, parece que a alta dose é a variável que mais influência na sobrevida, visto que mesmo pacientes sem a mutação, mas que receberam doses altas apresentaram sobrevida maior que pacientes que receberam doses baixas e que, pacientes com a mutação que receberam doses baixas apresentaram sobrevida menor do que aqueles com a mutação que receberam doses altas. No entanto, como a significância não se manteve no modelo ajustado, provavelmente pelo pequeno número amostral, é necessário cautela para tal conclusão.

Algumas considerações devem ser analisadas nesse estudo; primeiramente o tamanho da amostra pode ter influenciado nos resultados. A população estudada se constitui de diagnóstico com baixa incidência, dificultando o alcance de número elevado de participantes para a amostra. A população que foi estudada é originária de um hospital universitário de referência regional, e vários pacientes foram encaminhados ao hospital com resultado histopatológico já realizado em outro serviço, ao qual os pesquisadores não tiveram acesso, sendo excluídos da amostra, no entanto, o ponto fundamental para a redução do universo amostral do estudo foi a associação da radioterapia com a quimioterapia. A modalidade combinada de tratamento é o tratamento padrão para esses tumores e assim a grande maioria dos pacientes foram submetidos ao tratamento com quimio-radiação, não podendo assim ser incluídos para a avaliação. Estudos multicêntricos futuros permitirão avaliações com número maior de participantes e avaliações científicas mais detalhadas.

Deve-se considerar também o caráter retrospectivo do presente estudo, com as limitações inerentes da própria linha metodológica, como as deficiências no registro hospitalar, anotações inadequadas em prontuários médicos e as dificuldades de localização das informações.

Dos resultados obtidos foi possível avaliar as características dos pacientes admitidos na instituição e a característica da assistência terapêutica disponibilizada para essa população em nosso serviço. A epidemiologia se assemelha a outros estudos de parecida estrutura epidemiológica, porém foi notório a necessidade da melhora na disponibilidade de realização de RM encéfalo para um diagnóstico mais preciso, no controle pós-operatório imediato, para o planejamento do tratamento radioterápico e para o seguimento padrão desses pacientes. Faz-se necessário ainda melhorias das estruturas cirúrgicas para que quantidade maior de paciente possa ser submetida a resseções adequadas, com consequente melhora de sobrevida, resguardando é claro, a qualidade de vida dos doentes pós operados. Uma condição sinequanom identificada pelo estudo, é a necessidade imediata da disponibilização de testes imuno-histoquímicas para o diagnóstico e classificação das lesões gliais de acordo com alterações moleculares, assim como determina a OMS, permitindo assim caracterizar melhor os diagnósticos e avaliar melhor os fatores de prognóstico dos pacientes.

Analisando os dados deste estudo, é possível traçar discussões sobre o impacto social que a realização de testes moleculares pode desencadear. Já se sabe que pacientes com a mutação IDH apresentam melhores taxas de sobrevida do que pacientes sem a mutação e este estudo concluiu que há uma tendência de melhora da sobrevida naqueles pacientes mutados e que são submetidos a altas doses de radioterapia. Talvez a utilização desses resultados seja importante para triar que paciente seria um candidato mais hábil para se submeter ao tratamento radioterápico com doses altas.

Deve-se analisar os altos custos financeiros do tratamento com radioterapia, o deslocamento para a realização de um tratamento diário e o desgaste clínico e emocional gerados no paciente e nos familiares, considerando as baixas taxas de sobrevida dos pacientes sem a mutação e que recebem doses baixas de radioterapia, talvez pela condição clínica já deteriorada ao diagnóstico. Ao contrário, pacientes com a mutação, em bom perfil clínico, seriam candidatos mais propícios a receber investimentos de alto custo com a radioterapia, já que apresentam melhora de sobrevida com altas doses de radioterapia. Não se trata de escolher quem ou não ser submetido ao tratamento, mas sim em individualizar as ações, proporcionando à cada paciente uma abordagem singular, respeitando as apresentações da doença, sua evolução natural e os impactos socioeconômicos e emocionais que o diagnóstico apresenta.

7 CONCLUSÃO

O presente estudo concluiu que os pacientes com diagnóstico de glioma difusos submetidos a radioterapia no HC-UFU no período de 2005 a 2016 apresentaram características semelhantes aos dados da literatura, como predomínio no sexo masculino, idade média ao diagnóstico aproximada de 50 anos, a histologia mais comum foi o GBM e melhor sobrevida em pacientes com diagnóstico de tumores de baixo em comparação aos gliomas de alto grau. Não foi identificada diferença significativa entre idade, sexo, localização anatômica da lesão e a extensão da ressecção cirúrgica com relação à sobrevida global e a presença da mutação. De maneira univariada, pacientes mais idosos, com diagnóstico de glioma de alto grau, pacientes que receberam doses de radioterapia menores que 3060 cGy e os pacientes sem a mutação IDH1 apresentam menores chances de sobrevida. A interação entre a dose, a mutação e a sobrevida não foi significativa, porém parece que a dose de radioterapia é a variável que se relaciona mais acentuadamente com a sobrevida global dos pacientes.

8 ANEXOS

8.1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa intitulada “Mutação IDH1 e a relação com o prognóstico e a sensibilidade ao tratamento com radioterapia em gliomas”, sob a responsabilidade dos pesquisadores da Universidade Federal de Uberlândia, Ana Cristina de Araújo Lemos da Silva, Roseane Eloiza Máximo Silva, Marcelo Batista Chiovato dos Santos, Paula Philbert Lajolo Canto e Andrea de Martino Luppi.

A pesquisa tem como objetivo observar se pacientes com diagnóstico de Glioma apresentam ou não uma alteração específica no DNA de suas células e avaliar se essa alteração tem melhor benefício para o tratamento com radioterapia. Irá também demonstrar o perfil dos pacientes que são tratados no Setor de Oncologia da UFU com diagnóstico de Glioma. O TCLE será obtido pela pesquisadora Roseane Eloiza Máximo Silva, nas dependências do Setor de Oncologia, antes das consultas médicas dos pacientes que ainda estão em acompanhamento no Setor.

Na sua participação, você será informado que será feita uma avaliação dos dados de seu prontuário médico, em busca de informações importantes para a pesquisa. Você não será submetido a questionários, coletas de sangue ou exames. Em nenhum momento você será identificado. Os resultados da pesquisa serão publicados e ainda assim a sua identidade será preservada. Você não terá nenhum gasto nem ganho financeiro por participar da pesquisa.

Existe o risco de identificação do participante, no entanto este risco será minimizado pela não utilização e divulgação do nome, endereço, número de prontuário ou número da biópsia. De maneira alguma os dados de identificação dos participantes serão revelados ou publicados pela equipe pesquisadora.

A pesquisa tem como benefícios aos participantes e a população, oferecer o conhecimento sobre a relação entre a presença da alteração na célula e a resposta ao tratamento com radioterapia.

Você é livre para deixar de participar da pesquisa a qualquer momento sem qualquer prejuízo ou coação. Até o momento da divulgação dos resultados, você também é livre para solicitar a retirada dos seus dados, devendo o pesquisador responsável devolver-lhe o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado por você. Uma via original deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ficará com você.

Em caso de qualquer dúvida ou reclamação a respeito da pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora Roseane Eloiza Máximo Silva, pelo telefone (34) 3291-6173 ou na Av. Amazonas, 1996 - Jardim Umuarama, Uberlândia - MG, CEP 38405-302. Você poderá também entrar em contato com o CEP - Comitê de Ética na Pesquisa com Seres Humanos na Universidade Federal de Uberlândia, localizado na Av. João Naves de Ávila, nº 2121, bloco A, sala 224, campus Santa Mônica – Uberlândia/MG, 38408-100; telefone: 34-3239-4131. O CEP é um colegiado independente criado para defender os interesses dos participantes das pesquisas em sua integridade e dignidade e para contribuir para o desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos conforme resoluções do Conselho Nacional de Saúde.

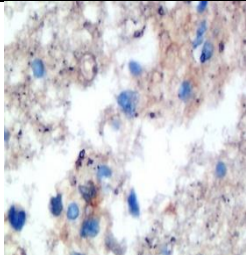
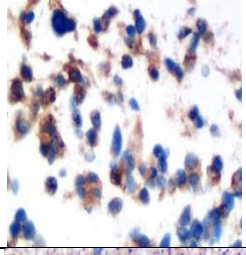
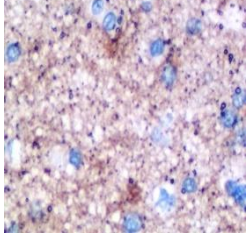
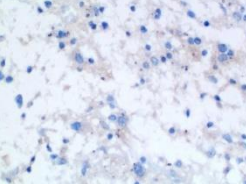
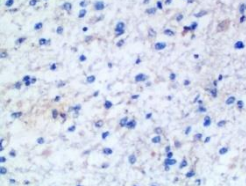
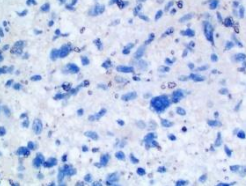
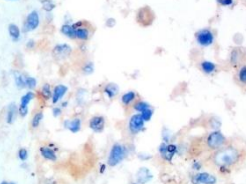
Uberlândia, __/__/__

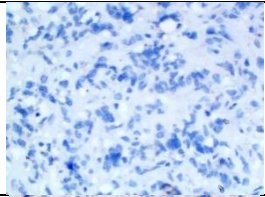
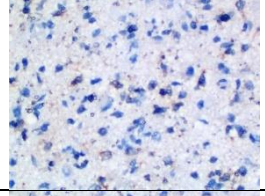
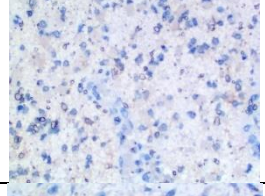
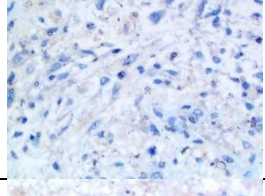
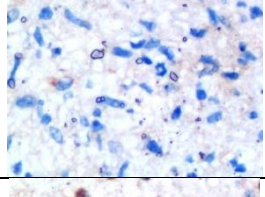
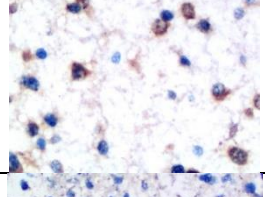
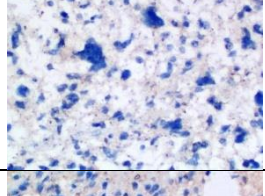
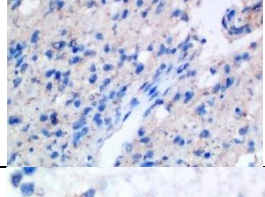
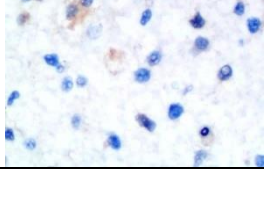
Assinatura da pesquisadora

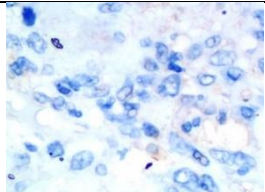
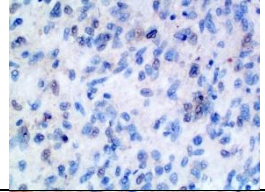
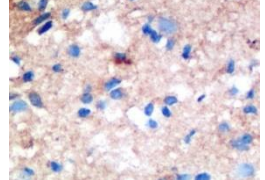
Eu aceito participar do projeto citado acima, voluntariamente, após ter sido devidamente esclarecido.

Assinatura do participante da pesquisa

8.2 Dados dos participantes analisados segundo o status da mutação IDH1.

CASO	IDADE (anos)	SEXO	LOCAL	GRAU NEOPLÁSICO	DOSE RT (cGy)	SOBREVIDA (meses)	STATUS IDH1	
01	66	M	Frontal, parietal e temporal D	Grau II	5580	48	POSITIVO	
02	63	M	Temporal D	GBM	5940	6	POSITIVO	
03	61	F	Parieto, occipital E	GBM	3000	1	NEGATIVO	
04	28	M	Tálamo esquerdo	Grau III	5580	10	NEGATIVO	
05	34	M	Parietal direita	Grau III	6120	12	NEGATIVO	
06	65	M	Temporal occipital esquerda	GBM	2900	3	NEGATIVO	
07	65	F	Frontal esquerdo	GBM	2700	3	POSITIVO	
08	34	F	Frontal esquerdo	Grau II	5400	Seguimento	POSITIVO	IMAGEM INDISPONIVEL

09	60	F	Dois hemisférios	GBM	2340	15	NEGATIVO	
10	40	M	Frontal direito	Grau III	5400	12	POSITIVO	
11	33	F	Frontal direito	GBM	5940	Seguimento	POSITIVO	
12	60	M	Frontal parietal direito	GBM	2700	2.5	NEGATIVO	
13	76	M	Corpo caloso	GBM	2800	3	NEGATIVO	
14	30	M	Occipital parietal esquerda	Grau II	5400	73	POSITIVO	
15	47	F	Parietal esquerda	GBM	360	4	NEGATIVO	
16	31	M	Frontal direito	Grau II	5400	50	NEGATIVO	
17	43	M	Frontal direito	Grau II	5400	40	POSITIVO	

18	55	M	Frontal, parietal esquerda	GBM	3000	8	NEGATIVO	
19	53	M	Temporal direita e frontal esquerda	GBM	3000	4	NEGATIVO	
20	30	M	Parieto occipital esquerda	Grau II	5400	Seguimento	POSITIVO (REAÇÃO COM FUNDO, PORÉM POSITIVIDADE RARA E FORTE)	

9 REFERÊNCIAS

BERGER, M. S. et al. The effect of extent of resection on recurrence in patients with low grade cerebral hemisphere gliomas. **Cancer**, v. 74, n. 6, p. 1784–1791, 1994. [https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19940915\)74:6<1784::AID-CNCR2820740622>3.0.CO;2-D](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19940915)74:6<1784::AID-CNCR2820740622>3.0.CO;2-D)

BLEEKER, F. E. et al. The prognostic IDH1(R132) mutation is associated with reduced NADP(+)-dependent IDH activity in glioblastoma. **Acta Neuropathologica**, v. 119, n. 4, p. 487–494, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00401-010-0645-6>

BRANDNER, S.; VON DEIMLING, A. Diagnostic, prognostic and predictive relevance of molecular markers in gliomas. **Neuropathology and Applied Neurobiology**, v. 41, n. 6, p. 694–720, 2015. <https://doi.org/10.1111/nan.12246>

BUCKNER, J. C. et al. Radiation plus Procarbazine, CCNU, and Vincristine in Low-Grade Glioma. **The New England journal of medicine**, v. 374, n. 14, p. 1344–1355, 2016. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1500925>

CHEN, J.-R. et al. Isocitrate Dehydrogenase (IDH)1/2 Mutations as Prognostic Markers in Patients With Glioblastomas. **Medicine**, v. 95, n. 9, p. e2583, 2016. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002583>

COHEN, A.; HOLMEN, S.; COLMAN, H. IDH1 and IDH2 Mutations in Gliomas. **Current neurology and neuroscience reports**, v. 13, n. 5, p. 345, 2013. <https://doi.org/10.1007/s11910-013-0345-4>

DANG, L. et al. Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. **Nature**, v. 462, p. 739, 2009. <https://doi.org/10.1038/nature08617>

DANGELO, J.G; FATTINI, C. . **Anatomia humana.Sistêmica e Segmentar**. Atheneu ed. Sao paulo.Brasil: [s.n.].

DE QUINTANA-SCHMIDT, C. et al. Importancia de la mutación de la isocitrato deshidrogenasa tipo I como factor pronóstico en pacientes con glioblastomas y revisión de la literatura. **Neurocirugía**, v. 26, n. 6, p. 276–283, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.neucir.2015.04.001>

DELGADO-LÓPEZ, P. D. et al. Diffuse low-grade glioma: a review on the new molecular classification, natural history and current management strategies. **Clinical and Translational Oncology**, v. 19, n. 8, p. 931–944, 2017. <https://doi.org/10.1007/s12094-017-1631-4>

DUBBINK, H. J. et al. IDH1 mutations in low-grade astrocytomas predict survival but not response to temozolomide. **Neurology**, v. 73, n. 21, p. 1792–1795, 2009. <https://doi.org/10.1212/WNL.0b013e3181c34ace>

Estimativa 2018: Incidência de Câncer no Brasil. Instituto ed. RIO DE JANEIRO-BRASIL: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva/ Ministério da Saúde., 2017.

FU, Y. et al. Glioma-derived mutations in IDH: From mechanism to potential therapy. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 397, n. 2, p. 127–130, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.05.115>

GEISBRECHT, B. V; GOULD, S. J. The Human PICD Gene Encodes a Cytoplasmic and Peroxisomal NADP⁺-dependent Isocitrate Dehydrogenase. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 43, p. 30527–30533, 1999. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.43.30527>

GOMES, F. C. A.; TORTELLI, V. P.; DINIZ, L. Glia: dos velhos conceitos às novas funções de hoje e as que ainda virão. **Estudos Avançados**, v. 27, p. 61–84, 2013. <https://doi.org/10.1590/S0103-40142013000100006>

GRAÇA, J. et al. **Avaliação dos Gliomas Cerebrais por Técnicas Avançadas de Ressonância Magnética.** [s.l: s.n.].

GUPTA, R. et al. Isocitrate dehydrogenase mutations in diffuse gliomas: clinical and aetiological implications. **Journal of Clinical Pathology**, v. 64, n. 10, p. 835–844, 2011. <https://doi.org/10.1136/jclinpath-2011-200227>

HAN, C. H.; BATCHELOR, T. T. Isocitrate dehydrogenase mutation as a therapeutic target in gliomas. **Chinese Clinical Oncology**, v. 6, n. 3, p. 33–33, 2017. <https://doi.org/10.21037/cco.2017.06.11>

HANIF, F. et al. Glioblastoma Multiforme: A Review of its Epidemiology and Pathogenesis through Clinical Presentation and Treatment. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 18, n. 1, p. 3–9, 2017.

IWADATE, Y. et al. IDH1 mutation is prognostic for diffuse astrocytoma but not low-grade oligodendrogliomas in patients not treated with early radiotherapy. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 124, n. 3, p. 493–500, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11060-015-1863-5>

JENKINS, R. B. et al. A t(1;19)(q10;p10) Mediates the Combined Deletions of 1p and 19q and Predicts a Better Prognosis of Patients with Oligodendroglioma. **Cancer Research**, v. 66, n. 20, p. 9852 LP-9861, 15 out. 2006.

JIANG, H. et al. Impact of epidemiological characteristics of supratentorial gliomas in adults brought about by the 2016 world health organization classification of tumors of the central nervous system. **Oncotarget**, v. 8, n. 12, p. 20354–20361, 2017. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13555>

JÚNIOR, L. R. et al. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, 90

v. 24, n. 1, p. 112–119, 2001.

KAO, H.-W. et al. Advanced MR Imaging of Gliomas: An Update. **BioMed Research International**, v. 2013, p. 14, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/970586>

KARIM, A. B. M. F. et al. Randomized trial on the efficacy of radiotherapy for cerebral low-grade glioma in the adult: European Organization for Research and Treatment of Cancer Study 22845 with the Medical Research Council study BRO4: an interim analysis. **International Journal of Radiation Oncology • Biology • Physics**, v. 52, n. 2, p. 316–324, [s.d.].

KARIM, A. B. M. F. et al. A randomized trial on dose-response in radiation therapy of low-grade cerebral glioma: European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) study 22844. **International Journal of Radiation Oncology • Biology • Physics**, v. 36, n. 3, p. 549–556, [s.d.].

KESSLER, J. et al. IDH1R132Hmutation causes a less aggressive phenotype and radiosensitizes human malignant glioma cells independent of the oxygenation status. **Radiotherapy and Oncology**, v. 116, n. 3, p. 381–387, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2015.08.007>

LECAVALIER-BARSOUM, M.; QUON, H.; ABDULKARIM, B. Adjuvant treatment of anaplastic oligodendrogliomas and oligoastrocytomas. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 5, 2014.

LEE, S. M. et al. Cytosolic NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase status modulates oxidative damage to cells. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 32, n. 11, p. 1185–1196, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00815-8](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00815-8)

LI, S. et al. Overexpression of isocitrate dehydrogenase mutant proteins renders glioma cells more sensitive to radiation. **Neuro-Oncology**, v. 15, n. 1, p. 57–68, 2013. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nos261>

LOUIS, D. N. et al. The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System. **Acta Neuropathologica**, v. 114, n. 2, p. 97–109, 2007. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0243-4>

LOUIS, D. N. et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. **Acta Neuropathologica**, v. 131, n. 6, p. 803–820, 2016. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>

MALMSTRÖM, A. et al. Temozolomide versus standard 6-week radiotherapy versus hypofractionated radiotherapy in patients older than 60 years with glioblastoma: the Nordic randomised, phase 3 trial. **The Lancet Oncology**, v. 13, n. 9, p. 916–926, 2012.

[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70265-6](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70265-6)

NELSON, D. F. et al. Combined modality approach to treatment of malignant gliomas--re-evaluation of RTOG 7401/ECOG 1374 with long-term follow-up: a joint study of the Radiation Therapy Oncology Group and the Eastern Cooperative Oncology Group. **NCI monographs : a publication of the National Cancer Institute**, n. 6, p. 279–284, 1988.

NOBUSAWA, S. et al. *IDH1* Mutations as Molecular Signature and Predictive Factor of Secondary Glioblastomas. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 19, p. 6002–6007, 2009. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0715>

OSTROM, Q. T. et al. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. **Neuro-Oncology**, v. 17, n. suppl_4, p. iv1-iv62, 2015.

OSTROM, Q. T. et al. American Brain Tumor Association Adolescent and Young Adult Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012. **Neuro-Oncology**, v. 18, n. Suppl 1, p. i1–i50, 2016.

PACKEISEN, J. et al. Demystified ... Tissue microarray technology. **Molecular Pathology**, v. 56, n. 4, p. 198–204, 2003. <https://doi.org/10.1136/mp.56.4.198>

PARSONS, D. W. et al. An Integrated Genomic Analysis of Human Glioblastoma Multiforme. **Science**, v. 321, n. 5897, p. 1807–1812, 2008. <https://doi.org/10.1126/science.1164382>

PIGNATTI, F. et al. Prognostic Factors for Survival in Adult Patients With Cerebral Low-Grade Glioma. **Journal of Clinical Oncology**, v. 20, n. 8, p. 2076–2084, 2002. <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.08.121>

POLLARD, P. J.; RATCLIFFE, P. J. Puzzling Patterns of Predisposition. **Science**, v. 324, n. 5924, p. 192–194, 2009. <https://doi.org/10.1126/science.1173362>

PRADOS, M. D. et al. Phase III randomized study of radiotherapy plus procarbazine, lomustine, and vincristine with or without BUdR for treatment of anaplastic astrocytoma: final report of RTOG 9404. **International Journal of Radiation Oncology • Biology • Physics**, v. 58, n. 4, p. 1147–1152, [s.d.].

PUROHIT, B.; KAMLI, A. A.; KOLLIAS, S. S. Imaging of adult brainstem gliomas. **European Journal of Radiology**, v. 84, n. 4, p. 709–720, [s.d.]. <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2014.12.025>

RANSOM, B. R.; KETTENMANN, H. Electrical coupling, without dye coupling, between mammalian astrocytes and oligodendrocytes in cell culture. **Glia**, v. 3, n. 4, p. 258–266, 1990. <https://doi.org/10.1002/glia.440030405>

RICKERT, C. H.; PAULUS, W. Epidemiology of central nervous system tumors in childhood

and adolescence based on the new WHO classification. **Child's Nervous System**, v. 17, n. 9, p. 503–511, 2001. <https://doi.org/10.1007/s003810100496>

RIEMENSCHNEIDER, M. J. et al. Molecular diagnostics of gliomas: state of the art. **Acta Neuropathologica**, v. 120, n. 5, p. 567–584, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00401-010-0736-4>

ROA, W. et al. Abbreviated Course of Radiation Therapy in Older Patients With Glioblastoma Multiforme: A Prospective Randomized Clinical Trial. **Journal of Clinical Oncology**, v. 22, n. 9, p. 1583–1588, 2004. <https://doi.org/10.1200/JCO.2004.06.082>

RYKEN, T. C. et al. The role of radiotherapy in the management of patients with diffuse low grade glioma. **Journal of Neuro-Oncology**, v. 125, n. 3, p. 551–583, 2015. <https://doi.org/10.1007/s11060-015-1948-1>

SANSON, M. et al. Isocitrate Dehydrogenase 1 Codon 132 Mutation Is an Important Prognostic Biomarker in Gliomas. **Journal of Clinical Oncology**, v. 27, n. 25, p. 4150–4154, 2009. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.21.9832>

SHAW, E. et al. Prospective Randomized Trial of Low- Versus High-Dose Radiation Therapy in Adults With Supratentorial Low-Grade Glioma: Initial Report of a North Central Cancer Treatment Group/Radiation Therapy Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group Study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 20, n. 9, p. 2267–2276, 2002. <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.09.126>

SOFFIETTI, R. et al. Guidelines on management of low-grade gliomas: report of an EFNS–EANO* Task Force. **European Journal of Neurology**, v. 17, n. 9, p. 1124–1133, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2010.03151.x>

STEWART, BERNARD W; WILD, C. P. **World Cancer Report 2014**. LYON FRANCE: International Agency for Research on Cancer, 2014.

THE CANCER GENOME ATLAS RESEARCH, N. Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways. **Nature**, v. 455, p. 1061, 2008. <https://doi.org/10.1038/nature07385>

VAN DEN BENT, M. J. et al. Long-term efficacy of early versus delayed radiotherapy for low-grade astrocytoma and oligodendroglioma in adults: the EORTC 22845 randomised trial. **The Lancet**, v. 366, n. 9490, p. 985–990, [s.d.]. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67070-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67070-5)

WAITKUS, M. S.; DIPLAS, B. H.; YAN, H. **Neuro-Oncology**. v. 18, n. April 2014, p. 16–26, 2016.

WANG, X.-W. et al. IDH1(R132H) Mutation Increases U87 Glioma Cell Sensitivity to

Radiation Therapy in Hypoxia. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 198697, 2014.

WARD, E. et al. Childhood and adolescent cancer statistics, 2014. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 64, n. 2, p. 83–103, 2014. <https://doi.org/10.3322/caac.21219>

WELLER, M. et al. Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Newly Diagnosed Glioblastoma. v. 1, p. 19–28, 2005.

WRENSCH, M. et al. Epidemiology of primary brain tumors: current concepts and review of the literature. **Neuro-Oncology**, v. 4, n. 4, p. 278–299, 2002. <https://doi.org/10.1093/neuonc/4.4.278>

WU, H. et al. Effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on muscle loss in older adults: A systematic review and meta-analysis. **Archives of Gerontology and Geriatrics**, v. 61, n. 2, p. 168–175, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2015.06.020>

YAN, H. et al. IDH1 and IDH2 Mutations in Gliomas. **The New England journal of medicine**, v. 360, n. 8, p. 765–773, 2009. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808710>

ZHAO, S. et al. Glioma-Derived Mutations in IDH1 Dominantly Inhibit IDH1 Catalytic Activity and Induce HIF-1 α . **Science (New York, N.Y.)**, v. 324, n. 5924, p. 261–265, 2009. <https://doi.org/10.1126/science.1170944>