



VII Congreso Virtual Hispanoamericano de Anatomía Patológica y I Congreso de Preparaciones Virtuales por Internet

Del 1 al 31 de octubre de 2005



Menor supervivencia y peor pronóstico en oligodendrogliomas con alta inmunorreactividad para el alfa-1a-adrenoceptor.

E. Moro-Rodríguez*, J. Figols**, M. Alvira***, H. Fernández-García*, G. Burmer***, C. Roush***, S. García-Gómez de las Heras*, MP. Nieto-Bona*, JA. Uranga-Ocio*, E. García-Poblete*

* Universidad Rey Juan Carlos. Dept. de Cc de la Salud. ESPAÑA

** Hospital Marques de Valdecilla. Facultad de Medicina de la Universidad de Cantabria. ESPAÑA

*** LifeSpan Biosciences ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

Resumen

RESUMEN:

Introducción: Los receptores alpha 1-adrenérgicos (ADRA1) son proteínas G transmembrana que se activan mediante compuestos adrenalina-like. Hay tres subtipos de ADRA1 en humanos: alpha (1A)-AR; alpha (1B)-AR; y alpha (1D)-AR. Actualmente es poco lo que se conoce acerca de la localización específica de cada uno de estos subtipos en los tejidos humanos. En el presente trabajo analizamos la inmunorreactividad en tumores derivados de la estirpe glial de un anticuerpo policlonal (379-LP1248) producido contra una única secuencia peptídica del ADRA1A.

Material y Metodos: Se han estudiado muestras de tejido incluido en parafina de veinticuatro pacientes diagnosticados de oligodendroglioma (OD) y 3 de Glioblastoma multiforme (GBM). Hemos realizado técnicas de inmunohistoquímica, inmunofluorescencia y microscopía confocal para colocalizar de forma cuantitativa la expresión de 379-LP1248 y la proteína glial fibrilar ácida (GFAP). Se ha utilizado también yoduro de propidio para contrateñir el ADN de los núcleos.

Resultados: Doce de 24 ODs mostraron una tinción moderada y en nueve casos la reacción fue intensa. Los coeficientes de correlación entre los receptores de ADRA1A o la GFAP y la muerte de los pacientes fueron significativos ($p=0.01$). Los tres GBM mostraron tinciones sólo en oligodendrocitos atrapados entre los astrocitos malignos. La construcción de las gráficas de supervivencia de Kaplan-Meier sugirió que los OD grado III, con un tiempo de supervivencia media de 36 meses y mediana de 24 meses, tenían un peor pronóstico que los OD grado II con un tiempo medio de supervivencia de 72 meses. El tiempo de supervivencia de los OD con baja intensidad de fluorescencia para ADRA1A (150-498) fue de 66.43 meses (mediana 96 meses) mejor si lo comparamos con el tiempo medio de supervivencia de 54 meses (mediana 24 meses) que presentaron los OD con una alta intensidad de fluorescencia para ADRA1A (502-1107).

Conclusión: En los Oligodendrogliomas humanos la mayor expresión de los receptores ADRA1A parece ser un indicador independiente de peor pronóstico y menor supervivencia.

Introduccion

Las células de la glia constituyen uno de los componentes principales del sistema nervioso central, después de las neuronas. Los oligodendrocitos no solo se han relacionado en nuestro día con la formación de la mielina de las fibras nerviosas (oligodendrocitos interfasciculares) sino que también intervendrían con las neuronas en el intercambio bioquímico de sustancias (oligodendrocitos satélite). Clásicamente se había relacionado a los oligodendrocitos con el desempeño funciones estructurales de sostén de la red neuronal. Sin embargo, nuestra atención se está centando cada vez más en nuevas funciones tanto moduladoras como de neurotransmión (Stone 1989).

Los oligodendrogliomas (OD) son tumores que manifiestan en algunas circunstancias un comportamiento clínico impredecible. Se suelen presentar principalmente en pacientes entre los 30 y los 40 años, generalmente debutando con síntomas focales de larga evolución aunque en algunas ocasiones el crecimiento tumoral es muy rápido. Desde las primeras descripciones realizadas por Bailey y Bucy se ha reconocido una mezcla de poblaciones entre las células neoplásicas, al tiempo que desde entonces resulta difícil predecir el comportamiento biológico si nos limitamos exclusivamente con la descripción de sus hallazgos histopatológicos (Barley 1929).

En nuestros días, los investigadores han centrado sus estudios en describir y caracterizar la significación que tendrían las deleciones citogenéticas que estos tumores presentan con relativa frecuencia tanto en el brazo corto del cromosoma 1 como en el brazo largo del cromosoma 19 (Smith 1999). Del mismo modo proliferan los trabajos que describen diferentes marcadores para estas células aunque, desafortunadamente, no hay por el momento ningún anticuerpo que se considere específico de los ODS (Wharton 1998).

El receptor alpha 1-adrenérgico (ADRA1) es una proteína G trans-membrana que se activa mediante compuestos adrenalina-like. Se han descrito tres subtipos de adrenoceptores en humanos: el alpha (1A)-AR cuyo gen se localiza en el cromosoma 8; el alpha (1B)-AR en cromosoma 5; y el alpha (1D)-AR en el cromosoma 20. Se conoce muy poco acerca de la localización específica de cada uno de éstos subtipos en los tejidos humanos. El alpha 1-AR se ha relacionado con varios procesos fisiológicos esenciales tales como la neurotransmisión, la regulación del tono vascular, de la contracción del músculo liso y cardíaco o el metabolismo hepático. Éstos receptores se han encontrado en el músculo liso de las arteriolas y venas, en el ojo, aparato digestivo, y piel así como en otros tejidos como las glándulas salivares y células nerviosas en el cerebro. En los tejidos vasculares se piensa que la contracción de las células musculares lisas depende de la vía proteínaG(q/11) que ocasionaría un incremento de la concentración de calcio. Aunque se han clonado diferentes subtipos de receptores procedentes de genes separados, la comparación de sus secuencias ha demostrado que existe un alto grado de homología y es poco lo que se conoce acerca de la localización específica de cada uno de los distintos subtipos en los tejidos humanos (Domyancic 1997), (Assari 2003).

En el presente trabajo analizamos y describimos la inmunolocalización de un anticuerpo policlonal de conejo (**379-LP1248**) producido por *Life Span Biosciences, Seattle* (WA) contra una única secuencia peptídica de Alpha 1-a adrenoceptor (ADRA1a) de cerebro normal humano, en veintiseis oligodendrogliomas y tres glioblastomas multiformes (GBM) de muestras de tejido de archivo que se encontraban embebidos en parafina.

Material y Métodos

Hemos estudiado veinticuatro oligodendrogliomas y dos recurrencias que se obtuvieron del archivo del Departamento de Patología del Hospital Marqués de Valdecilla, Santander (España). Todos los casos tenían entre 5 y más de 10 años de seguimiento habiendo sido diagnosticado el más antiguo en 1981. Se utilizaron para el estudio muestras tumorales de archivo que habían sido incluidas en parafina. Cada uno de los casos fueron caracterizados según su edad, sexo, fecha de diagnóstico, grado histológico de acuerdo con la clasificación de la OMS y evolución clínica.

El anticuerpo 379-LP1248 fue generado por *Life Span Biosciences, Seattle* (WA) mediante un péptido de 16 aminoácidos que se localizaba en el tercer loop citoplásmico del receptor alpha 1A Adrenoceptor. La comparación de la secuencia de éste péptido con otros miembros de la misma familia de proteínas mostró una variación muy pequeña en cuanto a su homología. El péptido fue purificado mediante HPLC al 95% de pureza, se conjugó con KLH, y se inyectó a dos conejos cuyo antisuero fue retirado y purificado en una columna de afinidad peptídica. Los ensayos de ELISA demostraron que el anticuerpo reconocía al antígeno peptídico. El anticuerpo fue posteriormente caracterizado mediante inmunohistoquímica en una panel de 22 tejidos periféricos normales entre los que se incluyó corazón, tres regiones de cerebro, y aorta. El patrón de inmunohistoquímica fue comparable a la distribución ya conocido de éste receptor en la literatura.

Se realizaron técnicas de inmunohistoquímica para co-localizar la expresión de 379-LP1248 y GFAP (Ab1 - Glial Fibrillary Acidic Protein - Bionova MS-280-R7). Se utilizó yoduro de propidio para contrañar el ADN de los núcleos.

Se realizó la titulación del anticuerpo 379-LP1248 sin desenmascaramiento antigénico. Los mejores resultados se obtuvieron con diluciones entre 1/750 - 1/1000. Se utilizó un anticuerpo secundario de cabra anti conejo IgG(H+L) conjugado con Alexa Fluor 488 contra 379-LP1248 (Molecular Probes - Lab Net A-11008) que se empleó a una dilución de 1/100 y un anticuerpo secundario de conejo anti ratón IgG(H+L) conjugado con Alexa Fluor 633 (Molecular Probes -V Lab Net A-21063) a 1/100. El yoduro de propidio se utilizó durante 5 minutos.

Los estudios de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia fueron evaluados semi cuantitativamente en un microscopio de transmisión Axioplan/Axiophot 2 (Zeiss) siguiendo una escala de tinción (0 no tinción, 1 tinción débil, 2 tinción moderada, y 3 tinción intensa). Además se realizó un estudio de inmunofluorescencia cuantitativa mediante microscopía confocal con un equipo LSM 510 META (Zeiss) que disponía de tres líneas de laser de argón (458/488/514 nm 25 mW) y dos líneas de helio-neón (543 nm 1mW; 633nm, 5mW). Para éste segundo propósito capturamos imágenes de cada caso con tres magnificaciones ópticas diferentes. Siguiendo esta metodología realizamos una media de 7 imágenes por caso y fueron evaluadas para su análisis estadístico un total de 167 imágenes. Entre éstas imágenes inclimos siempre un mosaico de 3x3 imágenes o de 4x4 imágenes a 20x o 40x según el caso. De las 167 imágenes realizadas registramos los valores de la media y desviación estándar en relación con la intensidad de fluorescencia de cada uno de los canales, ignorando las intensidades por debajo del 4%. Según esto obtuvimos tres valores numéricos diferentes relacionados con la inmunoreactividad para el anticuerpo primario estudiado, GFAP y yoduro de propidio.

El análisis estadístico se realizó mediante el paquete informático SPSS 12.0 para Windows. Para el análisis estadístico univariante se realizó el t-test y se calculó el coeficiente de correlación de Pearson a la hora de buscar las relaciones entre dos variables. Además, se completó el estudio con un análisis de supervivencia según las curvas de Kaplan-Meier.

Oligodendrogliomas

Table 1

case_id	age	gender	year	recurring	death	survival_months	grade
1	54	female	1981	yes /1983	yes	108	II
2	60	male	1981	yes	yes	24	II
3	40	male	1981	yes	yes	108	II
4	35	male	1982	no	yes	96	II
Relap. #3	43	male	1984	yes	yes	108	II
5	24	male	1985	yes /1992	yes	156	II
6	34	female	1988	no	no	.	II
7	18	male	1989	no	no	.	II
Relap. #5	31	male	1992	yes	yes	156	II
8	30	female	1992	no	no	.	II
9	55	female	1992	no	no	.	II
10	43	female	1993	no	yes	24	III
11	39	male	1996	yes /2000	no	.	III
12	34	female	1996	no	no	.	III
13	28	female	1997	no	no	.	II
14	17	male	1997	yes	yes	96	II
15	45	male	1997	no	no	.	III
16	21	female	1997	no	yes	9	II
17	49	female	1998	yes /2004	no	.	III
18	40	male	1998	no	yes	12	III
19	44	female	1998	no	yes	84	III
20	44	male	1998	no	yes	24	III
21	47	male	1999	no	yes	72	II
22	22	female	1999	no	yes	36	II
23	19	male	1999	yes	yes	36	III
24	64	female	2000	no	yes	12	III
N						17	26
Mean	37.69					68.29	

Tabla 1 - Datos demográficos de la serie de Oligodendrogliomas incluida en éste estudio.

Oligodendrogliomas

Table 2

case_id	grade	adrate_IF	adrate_IH	adrate_CF	gfap_CF	ip_CF	objective	tile
1	II	2	2	323	161	238	20x	3x3
2	II	3	3	1094	359	731	20x	3x3
3	II	2	2	449	426	992	20x	1x1
4	II	2	2	299	495	104	20x	3x3
Relap. #1	II	0	0	115	189	479	20x	3x3
5	II	1	2	482	180	347	20x	1x1
6	II	2	2	449	214	492	20x	1x1
7	II	2	3	1004	304	1406	20x	3x3
Relap. #5	II	3	3	563	210	832	20x	1x1
8	II	1	2	428	70	733	40x	3x3
9	II	3	3	1107	350	247	20x	1x1
10	III	2	2	778	248	171	40x	3x3
11	III	0	0	99	23	356	40x	3x3
12	III	1	1	267	74	775	40x	3x3
13	II	2	2	368	169	251	40x	3x3
14	II	0	0	150	229	645	40x	3x3
15	III	2	2	451	47	326	40x	3x3
16	II	2	2	467	226	609	40x	1x1
17	III	2	2	364	26	310	40x	3x3
18	III	3	3	1045	405	179	40x	1x1
19	III	3	3	1667	665	884	40x	2x3
20	III	3	3	502	140	366	40x	3x3
21	II	3	3	915	295	596	40x	3x3
22	II	2	3	1080	232	192	40x	3x3
23	III	0	1	249	94	510	40x	3x3
24	III	2	2	498	224	539	40x	3x3
N	26							
Mean				585.12	232.88	511.92		
Standard deviation				385.041	151.948	305.319		

In regard to the brevity in this table we included only 26 of the 167 images, corresponding to the tile scan images by confocal microscopy. **adrate_IF and adrate_IH** immunofluorescence and immunohistochemical semiquantitative values by strength of staining (0 no stain, 1 weak, 2 moderate, and 3 strong). **adrate_CF, gfap_CF, and ip_CF** are confocal immunofluorescence quantitative values representing mean of intensity in each image. **area** is the value of the whole file scanned and assessed.

Tabla 2 - * En razón de la extensión incluimos en esta tabla únicamente los resultados de 26 las 167 imágenes evaluadas, correspondientes a las imágenes de mosaico obtenidas mediante microscopía confocal. adrate_IH y adrate_IF son los valores semicuantitativos de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia según la intensidad de la tinción (0 no tinción, 1 tinción débil, 2 tinción moderada, y 3 tinción intensa). adrate_IH, adrate_CF, gfap_CF, y ip_CF reflejan los valores cuantitativos obtenidos mediante inmunofluorescencia evaluada con microscopía confocal representando la media de intensidades de cada imagen.

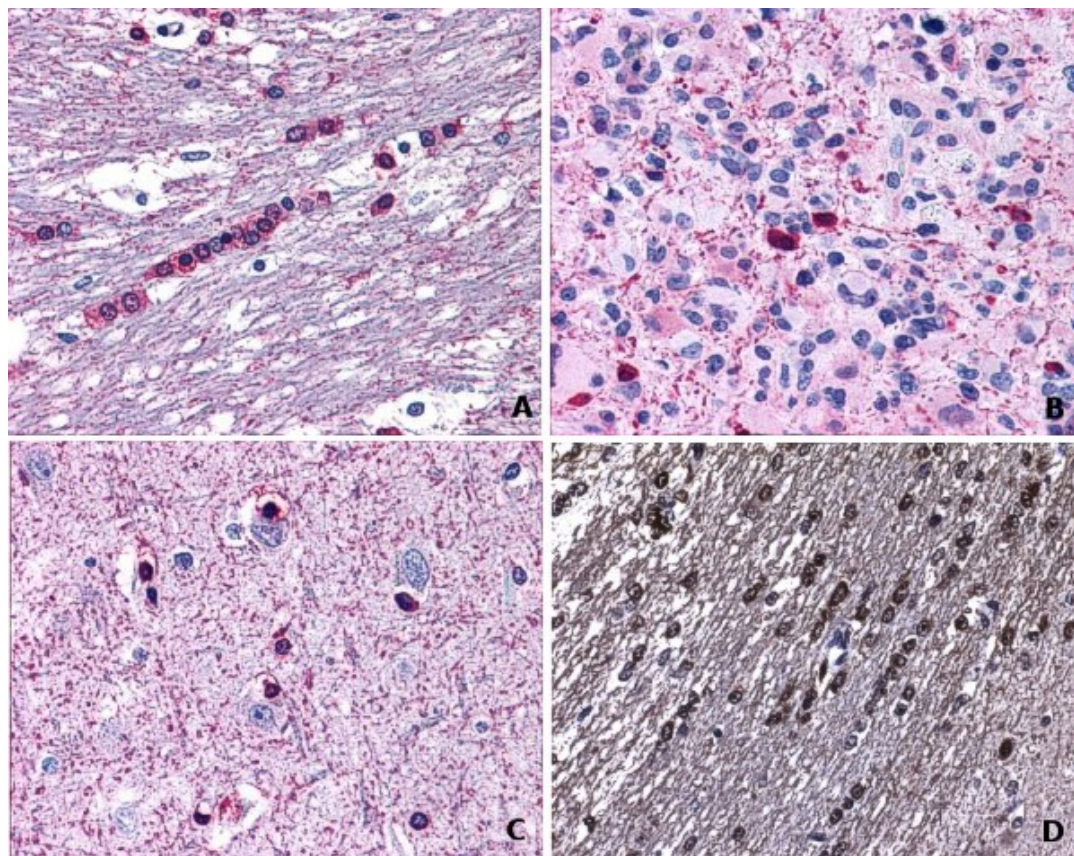


Figura 1 - Inmunoreactividad para el alfaa 1a-adrenoceptor en el sistema nervioso central (SNC) normal humano y del cobaya. A.- Cápsula interna, oligodendrocitos interfasciculares, tejido humano x400. B.- Glioblastoma multiforme, positivo en los procesos de células de oligodendroglia atrapados entre las células neoplásicas, tejido humano x400. C.- Cortex, células de oligodendrocitos satélite y neuropilo de oligodendroglia, tejido humano 400. D.- Cerebelo , oligodendrocitos interfasciculares y neuropilo, tejido de cobaya x100.

Resultados

En éste estudio hemos investigado 24 pacientes y 2 recurrencias que tuvieron lugar respectivamente a los tres y siete años después de realizado el diagnóstico. 12 casos fueron mujeres y 12 casos hombres. Los rangos de edades comprendieron entre los 17 y los 64 años (media 37.69 M:39.66 H). El tiempo de seguimiento de todos los pacientes superó los cinco años. 15 pacientes murieron (62,5%) (6M:9H), entre los cuales seis presentaron neoplasia recurrente. Solo un paciente murió antes de los diez meses después de realizado el diagnóstico. Entre los 9 casos que sobrevivieron a la neoplasia (6M:3H) 7 de ellos están libres de lesión (5M:2H). El grado histológico de acuerdo con la clasificación de la OMS incluyó 14 casos del grado II y 10 casos del grado III. Los detalles demográficos de la serie de casos estudiados se muestran en la Tabla 1.

El anticuerpo 379-LP1248 tiñó de forma constante tanto los oligodendrocitos interfasciculares como los satélite en los tejidos procedentes de muestras humanas y del cobaya (Figure 1). La tinción no se limitó al citoplasma sino que se extendía también a las prolongaciones finas de los procesos de los oligodendrocitos relacionados con el neuropilo en la sustancia gris y en las fibras mielínicas de la sustancia blanca. Ocasionalmente algunos astrocitos fibrosos mostraron una tinción débil con el anticuerpo 379-LP1248 según se confirmó mediante microscopía confocal y su co-localización con GFAP. Sin embargo, la población celular que predominantemente se teñía se correspondió de forma constante con células que morfológicamente eran oligodendrocitos y que no mostraban co-localización con GFAP.

La inmunohistoquímica mostró una tinción moderada en la mayor parte de las células tumorales en 12 (8 grado II/4 grado III) de 26 ODs y tinción intensa en 9 (6 grado II/3 grado III) (Figuras 2 y 3).

Los test inferencia univariante comparando las medias de intensidad de fluorescencia, determinada mediante LSM, dieron medias de 566.07 para el 379-LP1248, 243.62 para la GFAP y 537.92 para IP con un valor de la *t* de 24-150, 21.082 y 23.836 respectivamente. La correlación de Pearson para relaciones bivariate fue significativa con un valor de 0.01 para ADRA1A y GFAP.

La construcción de las gráficas de supervivencia de Kaplan-Meier sugirió que los casos grado III (con una media de supervivencia de 36 meses y una mediana de 24 meses), tenían un peor pronóstico que los casos grado II (con una media de supervivencia y mediana de 72 meses). La media de supervivencia de los casos con una intensidad de fluorescencia baja para ADRA1A (150-498) fue de 66.43 meses (mediana de 96 meses) comparada con el tiempo medio de supervivencia de 54 meses (mediana 24 meses) que presentaron los casos con una alta intensidad de fluorescencia para ADRA1A (502-1107).

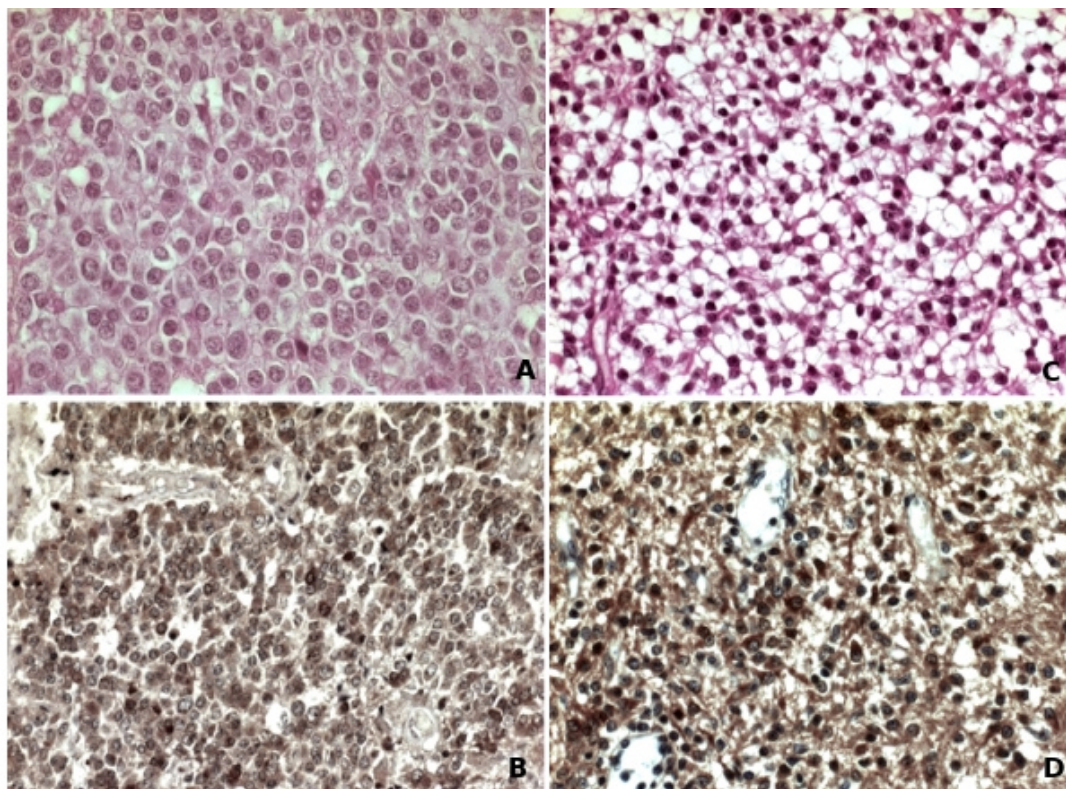


Figura 2. - A.- Oligodendroglioma grade II, H-E and B.- inmunohistoquímica para el alfa 1a-adrenoceptor. C.- Oligodendroglioma grade III, H-E and D.- inmunohistochemistry para el alfa 1a-adrenoceptor.

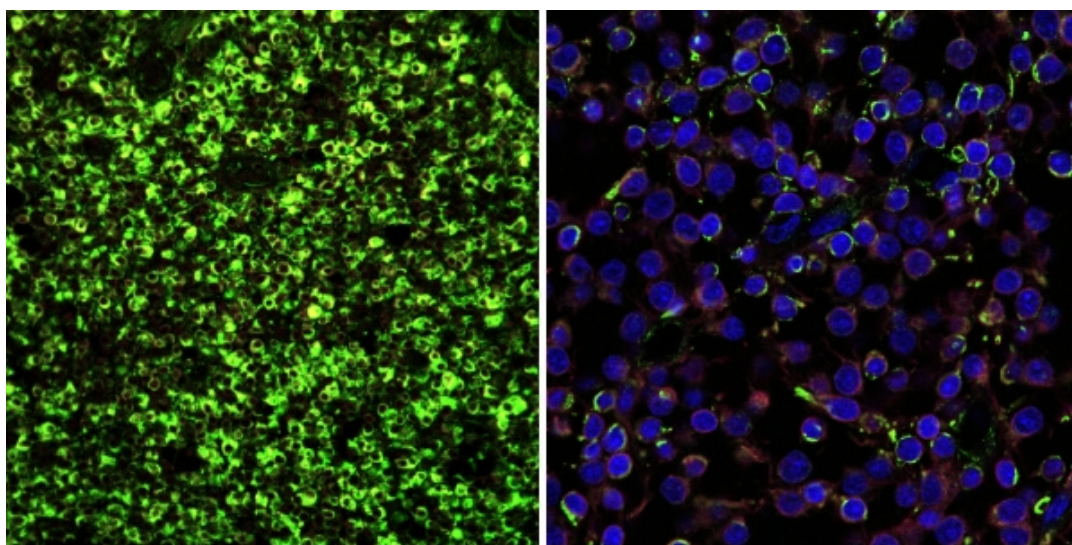
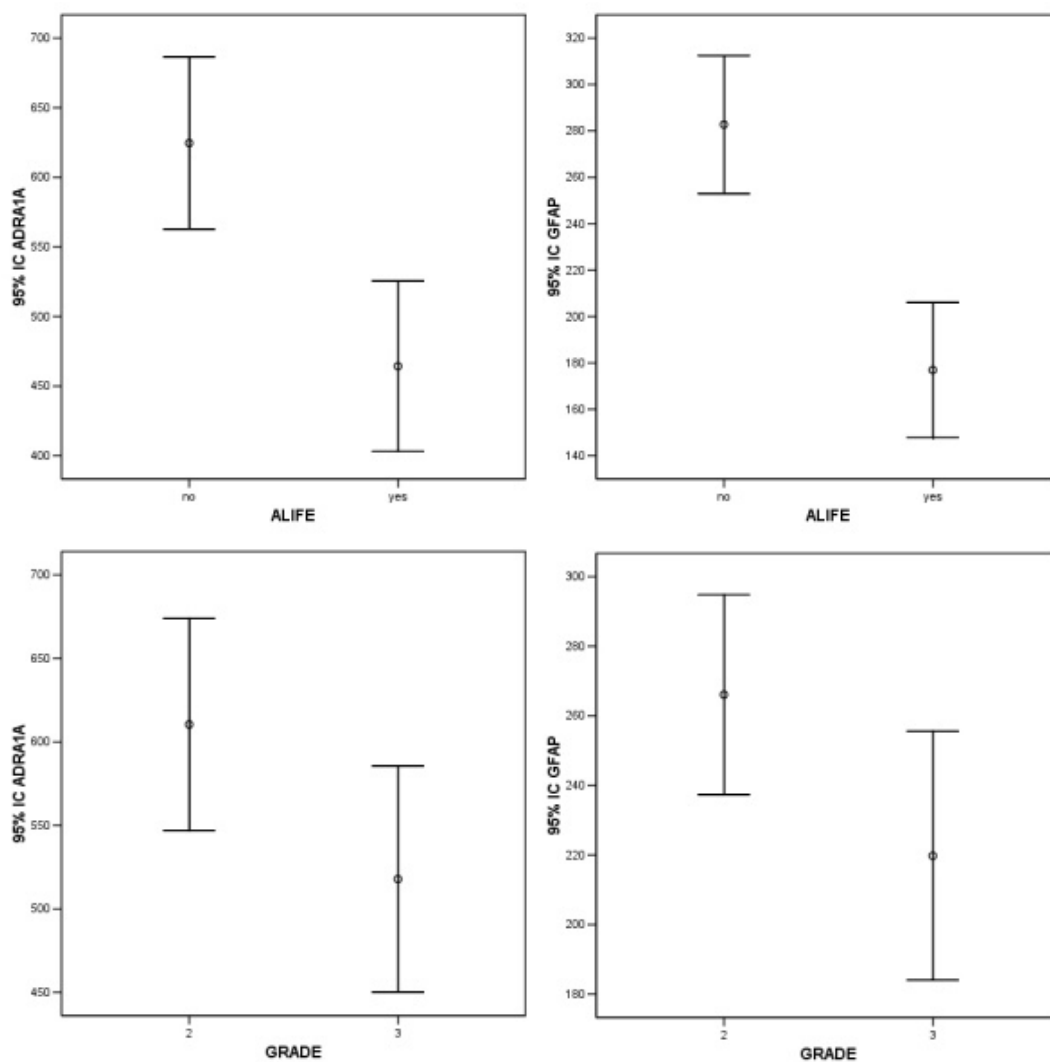
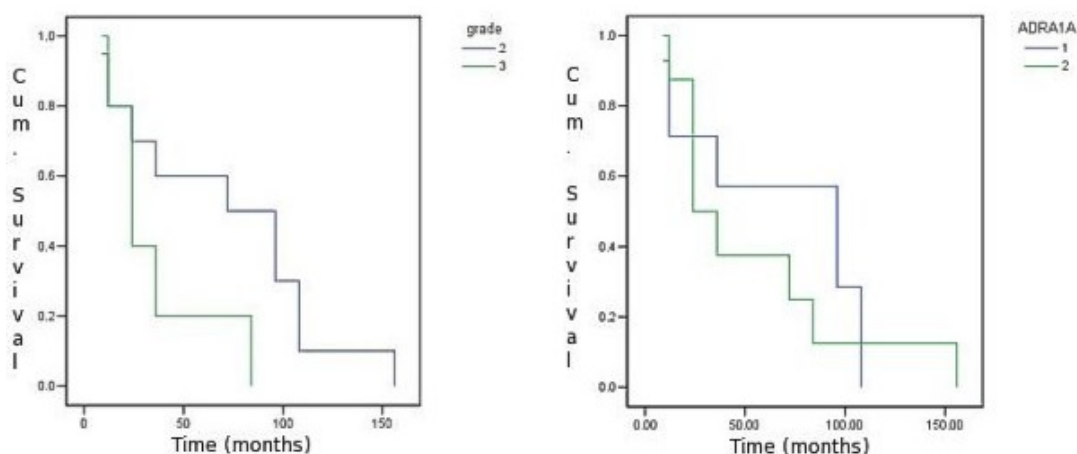


Figura 3. - Oligodendroglioma grade II, inmunofluorescencia para alfa 1a-adrenoceptor x400 (imagen izquierda) Expresión para ADRA1A (verde). Oligodendroglioma grade III, inmunofluorescencia para alfa 1a-adrenoceptor x630 oil (imagen derecha). Expresión para ADRA1A (verde), expresió para GFAP (rojo), yoduro de propidio (azul).



Gráficas de los valores de las medias y DT para ADRA1A y GFAP y su relación con la supervivencia and grado tumoral. Resultados obtenidos después de evaluar 167 imágenes de microscopía confocal del total de los casos (26) y realizar su correspondiente morfometría cuantitativa.



Gráfica 2 - Curvas de supervivencia Kaplan-Meier según el grado de tumor (línea azul grade II, línea verde grado III) e inmunoreactividad para alpha 1a-adrenocceptor (ADRA1A grupo 1 corresponde a los resultados cuantitativos mediante microscopía confocal con intensidades entre 150-498, línea azul; y grupo 2 con intensidades entre 502-1107, línea verde con peor pronóstico).

Discusión

Los oligodendrocitos, células descritas por primera vez como el segundo componente de la glía por Del Rio Hortega en 1921 (Del Rio-Hortega 1921), comparte con las neuronas un mismo origen ectodérmico. Éstas se reconocen por sus delicados y escasos procesos y algunas extensiones citoplásmicas cortas poco ramificadas. Su citoplasma es escaso y muestran una forma esférica o de pera con una apariencia descrita como de "huevo frito". Sus núcleos son pequeños y más densos que los de los astrocitos. Los oligodendrocitos, clásicamente llamados "satélite" se caracterizan por su localización en la sustancia gris encontrándose próximos a neuronas de tamaño grande y mediano.

En base a estudios morfológicos, los oligodendrocitos se han relacionado principalmente con la función de producir y mantener las fundas de mielina. Más recientemente se ha demostrado que los oligodendrocitos podían recibir señales de las neuronas vecinas y sintetizar diferentes factores de crecimiento. La expresión de estos factores de crecimiento estarían influenciados por las señales neuronales (Du 2002). Publicaciones recientes nos han demostrado con evidencias cada vez mayores que existen un complejo intercambio de moléculas entre las células de la glía y las neuronas.

En este trabajo hemos desmostrado una inmunolocalización del receptor ADRA1A en oligodendrocitos en tejido normal del SNC y en células neoplásicas en una serie de casos de oligodendrogliomas humanos, mediante el uso de un anticuerpo policlonal sensible a una única secuencia peptídica de éste receptor. Además, mediante una aproximación cuantitativa mediante inmunofluorescencia evaluada con microscopía confocal hemos visto que los casos de ODs en los cuales existía una mayor presencia de receptores, la supervivencia fue significativamente menor en comparación con los casos que presentaron un menor número de receptores. Los resultados no significativos obtenidos mediante la fluorescencia emitida por el yoduro de propidio, que podemos considerar como un control interno para contrateñir el DNA de los núcleos, dañan consistencia a nuestro método.

La secuencia usada para general el anticuerpo consistía en un péptido que mostraba una identidad del 100% entre el humano y el cerdo y una identidad del 94% entre humano y cobaya. Los hallazgos obtenidos con éste anticuerpo que selectivamente tiñeron los receptores ADRA1A tanto en oligodendrocitos de humanos como de cobaya nos indicaría que el cobaya podría ser considerado como un modelo animal óptimo para poder estudiar en ellos distintas enfermedades de desmielinización inducida.

Los adrenoceptores fueron los primeros neurorreceptores descritos en los astrocitos (Clark 1971), (Gilam 1971), (Stone 1989) y más recientemente en los oligodendrocitos (Khorchid 2002), (Assari 2003). Distintas líneas de investigación han convergido en confirmar la hipótesis de que las células de la glía serían una diana del sistema central neuroadrenérgico. Además, algunas evidencias indicarían que existe una subpoblación de receptores alfa1-AD que potenciarían la actividad de la adenilciclasa la cual se ha relacionado con un incremento rápido de la proliferación de éstas células de la glía. En el mismo sentido se ha comprobado que un incremento de la actividad mitogénica estaría activada por las proteínas quinasa (MAPKs) que se han visto se encuentran incrementadas en las células precursoras de los oligodendrocitos (OPC) después de estimular los α 1-adrenoceptores con norepinefrina en presencia de propanolol, sugiriendo que los receptores ADRA1A activarían las MAPK y que estos receptores podrían bloquearse con la toxina pertussis (PTX). La activación de las MAPK por tanto podría ocurrir a través de una proteína-G sensible a la PTX (Khorchid 1999). Ésta ruta de transducción de señales, en la que se activaría las MAPKs, debería de explorarse convenientemente en los oligodendrogliomas.

Podemos considerar, de acuerdo con el parecer de algunos autores al respecto, que existen dos tipos histológicos principales dentro de los oligodendrogliomas. Las formas tradicionales de OD que representarían el 80% de todos los casos y un 20% de casos que podrían clasificarse como "oligodendrogliomas inusuales". Dentro del grupo de los ODs "inusual" podríamos incluir aquellos que presentan una actividad proliferativa incrementada.

Una aproximación al problema de la diversidad de los ODs seguida por algunos autores es el uso de distintas técnicas de cultivos de tejidos. Mediante esta técnica se ha podido poner en evidencia, *in vitro*, un patrón de crecimiento característico en los oligodendrogliomas además de comprobar una actividad pulsátil de sus células neoplásicas (Escalona 2004). Ésta actividad pulsátil podría ser atribuida a la presencia de los adrenoceptores en ésta célula dado que su presencia en los miocitos cardiacos, también pulsátiles, se han relacionado con la apertura de canales de calcio causada por los compuestos adrenalina-like.

Inicialmente se describió que los "oligodendrogliomas clásicos" carecían de inmunoreactividad para GFAP, aunque poco después algunos autores confirmaron la posibilidad de que también los oligodendrogliomas podrían expresarla. Actualmente se acepta que la expresión de GFAP en los oligodendrogliomas corresponde no solo a astrocitos no tumorales atrapados entre el tumor sino también a la expresión de GFAP por los oligodendrocitos tumorales. Ésta expresión comenzaría como un halo perinuclear que se extendería por las prolongaciones citoplásmicas hasta convertirse en gruesas extensiones positivas para GFAP. Esta morfología es la que se da en llamar "oligodendroglia gliofibrilar" o "minigemistocitos" (Matyja 2001) (Matyja 2001b). Gran parte de éstas células neoplásicas positivas para GFAP en los ODs presentarían un tipo de transición celular a caballo entre la oligodendroglia y el linaje astrocitario. En éste sentido nosotros hemos podido demostrar en éste trabajo que algunas células neoplásicas de los ODs presentarían una colocalización entre GFAP y que el receptor ADRA1A se observa invariablemente positivo en el linaje normal de oligodendrocitos. Del mismo modo, y en circunstancias normales, algunos astrocitos fibrosos, en un número muy reducido si se comparara con la población total de astrocitaria, nos mostraron una co-expresión de ambos marcadores.

Todavía no se conoce si existe correlación entre la inmunorreactividad positiva para GFAP en los ODs y su pronóstico. En algunos trabajos, ni la presencia de oligodendrocitos gliofibrilares (GFOC) ni la de los minigemistocitos son predictivos de la supervivencia de los pacientes; aunque los pacientes con gemistocitos clásicos tuvieron tiempos de supervivencia aproximadamente dos veces más cortos que los pacientes que no presentaban éstas células en sus tumores. El signo ominoso de la presencia de gemistocitos en los ODs confirmaría algunos trabajos iniciales relacionados con la significación pronóstica de éstas células en los astrocitomas. Otra observación constante es el hallazgo de "oligodendrocitos gliofibrilares" en las tinciones con GFAP y de un patrón denominado "chicken wire" de vasos tumorales observado mediante tinciones de HE y que se ha relacionado significativamente presente con mayor frecuencia en los ODs de alto grado (Jagadha 1986), (Kross 1990), (Schiffer 1997), (Dehghani 1998). En éste sentido, en nuestro trabajo hemos encontrado que los ODs tendrían una correlación entre su inmunorreactividad para GFAP y la muerte de los pacientes pero no hemos podido confirmar su peor pronóstico en términos de encontrar una menor media o mediana en la supervivencia al realizar las curvas de Kaplan-Meier.

Conclusiones

Dos son las conclusiones que se pueden desprender del trabajo aquí presentado:

1. La tinción selectiva de los oligodendrocitos mediante el anticuerpo **379-LP1248** en cobayas sugeriría la posibilidad de poder emplear éste marcador en distintos modelos animales de desmielinización inducida. Si consideramos la estrecha relación que existe entre neuronas y oligodendrocitos en la fisiología de la mielogénesis, podría ser muy interesante estudiar el papel de los receptores ADRA1a en los oligodendrocitos normales en comparación con los de las enfermedades de desmielinización (esclerosis múltiple y leucodistrofias).
2. Hemos desmostrado una inmunolocalización del **receptor ADRA1A** en oligodendrocitos en tejido normal del SNC y en células neoplásicas en una serie de casos de oligodendrogliomas humanos, mediante el uso de un anticuerpo policlonal sensible a una única secuencia peptídica de éste receptor. Además, mediante una aproximación cuantitativa mediante inmunofluorescencia evaluada con microscopía confocal hemos visto que los casos de ODs, en los cuales existía una mayor presencia de receptores, la supervivencia fue significativamente menor en comparación con los casos que presentaron un menor número de receptores; lo que podría tener valor tanto para el diagnóstico de ésta neoplasia como para el ulterior manejo clínico y terapéutico de éstos pacientes. En este sentido, la ruta de trasducción de señales en la que se activaría las MAPKs a través de estos receptores debería de explorarse convenientemente en los oligodendrogliomas.

Agradecimientos

Nuestra sincera gratitud y reconocimiento a Raquel Franco Rodriguez, Julio Paredes Gonzalez y Antonio Marquez Gallego por su ayuda y asistencia técnica.

Bibliografía

- ≪ Assari T, Cox S, Munday MR, Pearce B. Regulation of alpha(1)-adrenoceptor-linked phosphoinositide metabolism in cultured glia: involvement of protein phosphatases and kinases. *Cell Signal*. 2003; 15: 403-12.
- ≪ Barley P, Bucy PC. Oligodendroglomas of the brain. *J. Path Bact*. 1929; 32:735-751.
- ≪ Clark RB, Perkins JB. Regulation of adenosine 3,5-cyclic monophosphate concentration in cultured human astrocytoma cells by catecholamines and histamine. *Proc Nat Acad Sci*. 1971;68:2757-2760.
- ≪ Dehghani F, Schachenmayr W, Laun A, Korf A. Prognostic implication of histopathological, immunohistochemical and clinical features of oligodendroglomas: a study of 89 cases. *Acta Neuropathol*. 1998; 95:493-504.
- ≪ Del Rio-Hortega, P. Estudios sobre la neuroglia. La glía de escasas radiaciones(oligodendroglía). *Bo R Soc Espan Hist Nat*. 1921;21:63-92.
- ≪ Du Y, Dreyfys F.C. Oligodendrocytes as provider of growth factors. *J Neurosc Res*. 2002; 68:647-654.
- ≪ Escalona Zapata J. Uncommon oligodendroglomas. *Acta Neuropathol (Berlin) Suppl VII* 1981; 94-96.
- ≪ Escalona Zapata J., Cases Huerta M.J., Díez Nau M.D., López Martínez Bernal B. Estudio del oligodendrogloma y sus variantes por medio del cultivo de tejidos. *Rev Esp Patol* 2004; 37:65-72.
- ≪ Gilamn AG, Nirenberg M. Effect of catecholamines on the adenosine 3',5'-cyclin monophosphate concentrations of clonal satellite cells of neurons. *Proc Natl Acad Sci*. 1971; 68:2165-2168.
- ≪ Jagadha V, Halliday WC, Becker LE. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) in oligodendroglomas: a reflection of transient GFAP expression by immature oligodendroglia. *Can J Neurol Sci*. 1986 Nov;13(4):307-11.
- ≪ Khorchid A, Larocca JN, Almazan G. Characterization of the signal transduction pathways mediating noradrenaline-stimulated MAPK activation of c-fos expression in oligodendrocyte progenitors. *J Neurosci Res* 1999; 58; 765-778.
- ≪ Khorchid A, Cui Q, Molina-Holgado E, Almazan G. Developmental regulation of alpha 1A-adrenoceptor function in rat brain oligodendrocyte cultures. *Neuropharmacology*. 2002; 42: 685-696.
- ≪ Kros JM, Van Eden CG, Stefanko SZ, Waayer-Van Batenburg M, van der Kwast TH. Prognostic implications of glial fibrillary acidic protein containing cell types in oligodendroglomas. *Cancer*. 1990 Sep 15;66(6):1204-12.
- ≪ Matyja E, Taraszewska A, Zabek M. Phenotypic characteristics of GFAP-immunopositive oligodendroglial tumours Part I: immunohistochemical study. *Folia Neuropathol*. 2001;39(1);19-26.
- ≪ Matyja E, Taraszewska A, Naganska E, Zabek M. Phenotypic characteristics of GFAP-positive oligodendroglial tumours. Part II: ultrastructural study. *Folia Neuropathol*. 2001;39(2);103-10.
- ≪ Schiffer D, Dutto A, Cavalla P, Bosone I, Chio A, Villani R, Bellotti C. Prognostic factors in oligodendrogloma. *Can J Neurol Sci*. 1997 Nov;24(4);313-9.
- ≪ Smith JS, Alderete B, Minn Y, Borell TJ, Perry A, Mohapatra G, Hosek SM, Kimmel D, O'Fallon J, Yates A, Feuerstein BG, Burger PC, Scheithauer BW, Jenkins RB. Localization of common deletion regions on 1p and 19q in human gliomas and their association with histological subtype. *Oncogene*. 1999; 18:4144-4152.
- ≪ Stone EA, Ariano MA. Are glial cells targets of the central noradrenergic system? A review of the evidence. *Brain Res Brain Res Rev*. 1989;14:297-309.
- ≪ Wharton SB, Chan KK, Hamilton FA, Anderson JR. Expression of neuronal markers in oligodendroglomas: an immunohistochemical study. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1998; 24:302-308.