

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
HOSPITAL UNIVERSITARIO “DR. JOSÉ ELEUTERIO GONZÁLEZ”
SERVICIO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA



**“EXPRESIÓN DE RAD51 EN GLIOMAS DE ALTO GRADO DE UN
HOSPITAL DE CONCENTRACIÓN DEL NORESTE DE MÉXICO”**

POR

DR. MAURICIO GONZALO ALANIS ARREDONDO

**COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALISTA EN
ANATOMÍA PATOLÓGICA Y CITOPATOLOGÍA**

DIRECTOR: DR. ÁLVARO BARBOSA QUINTANA
CODIRECTOR: DRA. MED. RAQUEL GARZA GUAJARDO

DICIEMBRE 2024

“EXPRESIÓN DE RAD51 EN GLIOMAS DE ALTO GRADO DE UN HOSPITAL DE CONCENTRACIÓN DEL NORESTE DE MÉXICO”

Aprobación de la tesis:



Dr. Alvaro Barbosa Quintana
Director de tesis



Dra. Med. Raquel Garza Guajardo
Codirector de tesis



Dra. Natalia Vilches Cisneros
Coordinador de Enseñanza



Dr. Juan Pablo Flores Gutiérrez
Coordinador de Investigación



Dra. Med. Oralia Barboza Quintana
Jefe del Servicio



Dr. Med. Felipe Arturo Morales Martínez
Subdirector de Estudios de Posgrado

Agradecimientos

A mi familia, maestros, compañeros, personal técnico, administrativo y de enseñanza, por permitir que este trabajo y este logro sean posibles.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo		Página
Capítulo I	Resumen	1
Capítulo II	Marco Teórico	5
Capítulo III	Hipótesis	16
Capítulo IV	Objetivos	17
Capítulo V	Material y Métodos	18
Capítulo VI	Resultados	24
Capítulo VII	Discusión	34
Capítulo VIII	Conclusiones	37
Capítulo IX	Bibliografía	38
Capítulo X	Resumen Autobiográfico	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Página
Tabla 1	Recuento por sexo	24
Tabla 2	Distribución de edad	25
Tabla 3	Distribución de H-score	26
Tabla 4	Shapiro-Wilk	27
Tabla 5	Cuartiles de H-score	27
Tabla 6	Recuento de sobreexpresión	28
Tabla 7	Sobreexpresión por sexo	29
Tabla 8	Prueba exacta de Fisher	30
Tabla 9	U de Mann-Whitney	31
Tabla 10	R al cuadrado de Nagelkerke	31
Tabla 11	Sobreexpresión pronosticada	32
Tabla 12	Efecto de edad y sexo	32
Tabla 13	U de Mann-Whitney	32
Tabla 14	Rangos de H-score	33
Tabla 15	Rho de Spearman	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
Figura 1	Función de RAD51	6
Figura 2	Cálculo de muestra	23
Figura 3	Recuento de sexo	24
Figura 4	Recuento de edades	25
Figura 5	Recuento de H-score	26
Figura 6	Distribución de H-score	27
Figura 7	Recuento de sobreexpresión	28
Figura 8	Sobreexpresión por sexo	29
Figura 9	Edades por sobreexpresión	30

LISTA DE ABREVIATURAS

RAD51: radiosensible 51.

ADN: ácido desoxirribonucleico.

XRCC2: complementación cruzada de reparación por rayos X 2.

RTK: receptor tirosina quinasa.

Ras: sarcoma de ratas.

PI3K: fosfoinositol 3-cinasa.

TP53: proteína tumoral p53.

CD: cúmulo de diferenciación.

ATP: adenosín trifosfato.

SNC: sistema nervioso central.

NOM: norma oficial mexicana.

SPSS: Paquete Estadístico para las Ciencias Sociales.

IBM: Máquinas de Negocios Internacionales.

H-score: *Histoscore*, método de evaluación para expresión de biomarcadores.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

RAD51 es el acrónimo del gen y su proteína “radiosensible 51”, que se trata de una parte importante en la maquinaria de la reparación homóloga del ADN humano. Esta proteína tiene la acción de una recombinasa y ATPasa en las roturas de doble cadena del ADN, con la función de proteger al genoma humano contra la inestabilidad genética. RAD51 normalmente presenta una expresión basal baja, sin embargo, se ha observado que puede mostrar sobreexpresión ante estímulos nocivos, tales como la radiación ionizante.

Varios estudios han demostrado que esta proteína además se sobreexpresa en por lo menos 28 tipos de cáncer distintos, de los cuales, en por lo menos 11 de ellos se ha asociado a peor pronóstico. Entre ellos, se ha visto que RAD51 puede tener sobreexpresión en gliomas de alto, como lo visto en el estudio de Walsh et al.

Los gliomas de alto grado son neoplasias malignas de células gliales del sistema nervioso central, las cuales, notoriamente muestran un comportamiento biológico agresivo, lo que les confiere a los pacientes un mal pronóstico y pobre sobrevida. Debido a esto, el tratamiento quirúrgico de estos pacientes suele acompañarse de adyuvantes, tales como la quimioterapia, así como radioterapia. Importantemente, ambos tratamientos adyuvantes funcionan mediante un mecanismo de acción genotóxico, lo cual normalmente se traduce en el acúmulo de roturas de doble cadena en el ADN, y eventualmente, la inducción de apoptosis de esas células. Sin embargo, se ha detectado que la

sobreexpresión de RAD51 induce un estado de hiperrecombinación, lo que les confiere a estas células tumorales una marcada resistencia a los tratamientos genotóxicos.

Es debido a esto que se ha estudiado y desarrollado medicamentos con función inhibitoria directa e indirecta de RAD51, dentro de los cuales, por lo menos 5 de ellos han demostrado resultados prometedores en estudios clínicos de gliomas, tanto in vitro como in vivo, en donde se ha visto que inducen radiosensibilidad exitosamente.

Sin embargo, actualmente no existen estudios que detallen la expresión de RAD51 en gliomas de alto grado en una población mexicana, por lo que existe la necesidad de justificar el desarrollo de alternativas pronósticas y de tratamiento en esta población, teniendo en cuenta que RAD51 se ha mostrado prometedor como biomarcador pronóstico y como un potencial blanco terapéutico.

MATERIAL Y MÉTODOS

El objetivo primario de este estudio fue determinar si existe sobreexpresión de RAD51 en gliomas de alto grado de nuestro medio, con el objetivo secundario de buscar una relación entre la edad, el sexo y la sobreexpresión de RAD51. Se realizó una búsqueda en nuestro sistema digital y se recolectaron bloques y laminillas de tejido con el diagnóstico equivalente a glioma de alto grado, donde se recabaron un total de 69 casos evaluables posterior a aplicar criterios de inclusión y de exclusión.

Posteriormente, se hizo selección de tejido para cada caso y se colocaron en microarreglos tisulares, para así ser sometidos a tinciones de inmunohistoquímica con un anticuerpo para RAD51. Estas laminillas, fueron revisadas por dos patólogos mediante microscopía de luz, asignándoles un puntaje H-score a cada caso y promediando los puntajes de ambos patólogos. Este puntaje luego fue comparado con tejido glial no neoplásico, en donde se decidió de forma individual si los casos mostraban sobreexpresión o no. Una vez hecho esto, los resultados de la edad, sexo, H-score y sobreexpresión de cada caso, fueron sometidos a análisis estadístico descriptivo e inferencial.

RESULTADOS

En cuanto al análisis descriptivo de la muestra, el 40.5 % de los pacientes fueron femeninos y 59.4 % correspondieron a pacientes masculinos, con un promedio de edad de 53.9 años. Los puntajes de H-score asignados para la inmunohistoquímica de RAD51 mostraron un rango de 0 a 190 puntos, con promedio de 54.8 puntos, mediana de 45 puntos y moda de 0 puntos; donde se realizó una prueba de Shapiro-Wilk, la cual demostró que estos puntajes de H-score no tienen normalidad de distribución. En cuanto a la sobreexpresión de RAD51, esta resultó con una prevalencia del 87 %, donde el 92.9 % y 82.9 % de los pacientes femeninos y masculinos mostraron sobreexpresión, respectivamente, representando al 37.6 % y 49.2 % de todos los casos, respectivamente.

En cuanto al análisis inferencial, se realizaron pruebas de U de Mann-Whitney, prueba exacta de correlación de Fisher, coeficiente de correlación de Spearman y regresión logística con R al cuadrado de Nagelkerke, en las cuales no se logró establecer una asociación estadísticamente significativa entre el sexo y la edad de los pacientes con el H-score y la sobreexpresión de RAD51.

CONCLUSIÓN

Se rechaza la hipótesis nula de este estudio y se afirma que sí existe sobreexpresión de RAD51 en gliomas de alto grado en nuestro medio. Encontrándose como hallazgo adicional secundario, que las variables de sexo y edad no tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el H-score ni sobre la sobreexpresión de RAD51 en estos tumores. Sin embargo, esto se debe de interpretar tomando en cuenta una serie de factores adicionales, los cuales, pudieran estar contribuyendo a los resultados de este estudio. Por lo tanto, se recomienda indagar en los factores y variables faltantes para llegar a un mejor entendimiento de la expresión de RAD51 en estos tumores.

MARCO TEÓRICO

INTRODUCCIÓN

RAD51 es un gen que codifica la proteína del mismo nombre. La proteína RAD51 es una parte clave en la maquinaria de la reparación del ADN humano, específicamente en un proceso llamado recombinación homóloga. La recombinación homóloga es el mecanismo por el cual las células pueden reparar las roturas de doble cadena del ADN, utilizando una cromátide hermana adyacente como plantilla homóloga de ADN no dañado (1). La proteína RAD51 ayuda a facilitar este proceso al interactuar y formar complejos con otras proteínas y al formar bucles con el ADN, lo que permite el intercambio de información genética entre una cromátide y otra (2).

La proteína RAD51 es particularmente importante en la reparación de roturas de doble cadena, lo cual puede presentarse por varios motivos, entre ellas, la radiación ionizante y la quimioterapia (3). Además, se ha descubierto que la proteína RAD51 desempeña un papel en el mantenimiento de la estabilidad genómica y la prevención de mutaciones genéticas (1).

La proteína RAD51 se expresa en la mayoría de los tejidos del cuerpo y está muy conservada en todas las especies (6). Es miembro de la familia de proteínas RAD51, que incluye a RAD51B, RAD51C, RAD51D y XRCC2. En conjunto, estas proteínas trabajan para garantizar la reparación precisa del ADN dañado y mantener la integridad del genoma (2).

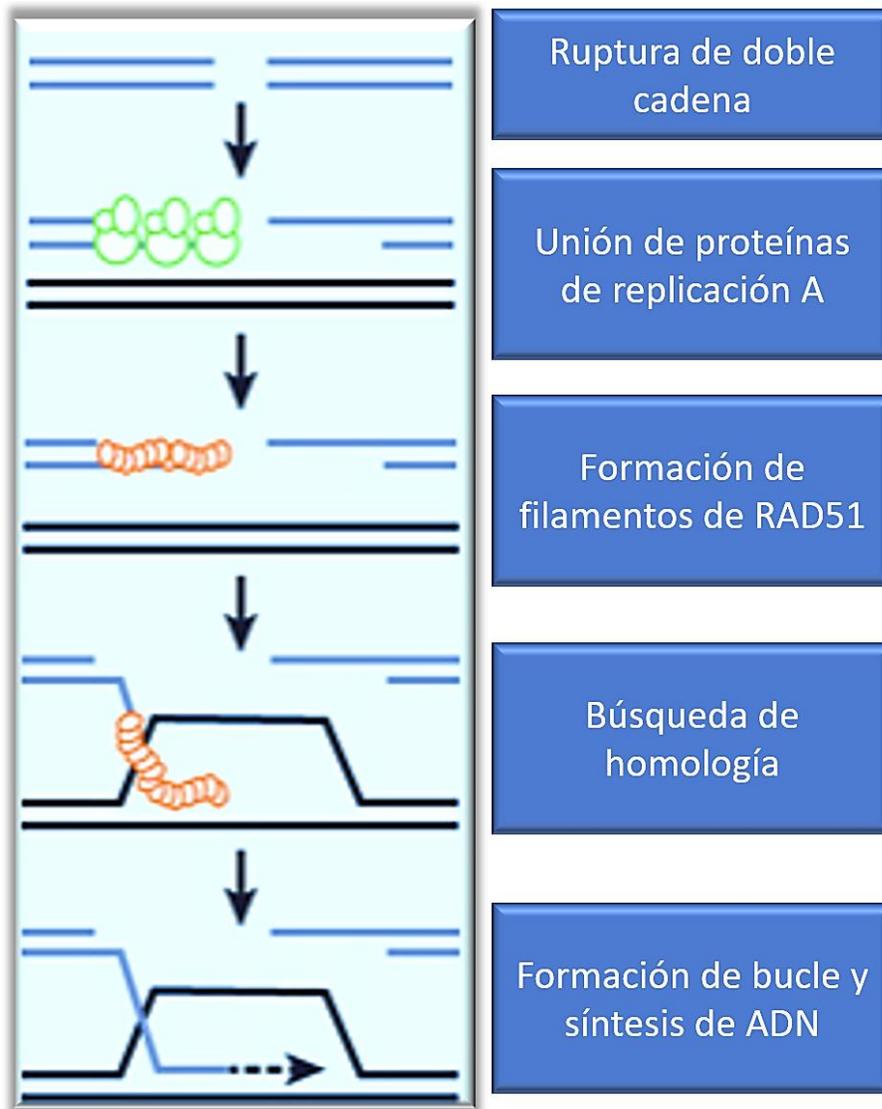


Figura 1. Participación de RAD51 en la vía molecular de la reparación por recombinación homóloga del ADN.

GLIOMAS

Los gliomas son los tumores intraaxiales primarios más comunes del sistema nervioso central, los cuales surgen a partir de las células gliales, células especializadas que normalmente brindan apoyo y protección a las neuronas de este sitio. Estos tumores pueden ser benignos o malignos, que además, se clasifican histopatológicamente en grados, desde grado 1 a grado 4; siendo los grados 1 y 2 considerados benignos o de bajo grado, mientras que los grados 3 y 4 son malignos o de alto grado; estos últimos dos se caracterizan por su comportamiento biológico más agresivo.

La patogénesis de estos tumores no está completamente comprendida, pero se cree que contribuyen tanto factores genéticos como ambientales. Existen varias teorías del origen, una de ellas propone que surgen de la mutación en genes que regulan la división y muerte celular. Dichas mutaciones pueden ser heredadas o adquiridas a lo largo de la vida. La patogénesis molecular del glioblastoma indica que las vías RTK/Ras/PI3K, RB y TP53 son críticas para la gliomagénesis humana (9). Dentro de los factores ambientales, la exposición a radiación y/o químicos pueden contribuir al desarrollo de estas neoplasias.

También se cree que los gliomas pueden surgir a partir de células madre que presentan crecimiento y diferenciación anormal. Las células madre son células indiferenciadas que tienen la capacidad de convertirse en diferentes tipos de células. En el cerebro, las células madre dan origen a las células gliales, que dan sostén y protegen a las neuronas.

CÉLULAS MADRE GLIALES

Actualmente está bien establecido que los gliomas de alto grado están compuestos por poblaciones de células tumorales heterogéneas, incluidas células tumorales con características similares a las células progenitoras neurales llamadas "células madre de glioma" (13).

Las células madre gliales se estudiaron por primera vez en 2002 y se encontró que se localizaban en un nicho vascular. Se cree que surgen de células de la zona subventricular o de células de glioma diferenciado. Varios marcadores de estas células madre gliales, a saber, CD133, CD44 y CD15, ayudan a definir y enriquecer esta población de células, aunque no son específicos (14).

Las células madre gliales residen principalmente en nichos perivasculares, donde los componentes de la matriz extracelular modulan la función y la supervivencia de estas células. Se ha demostrado que varios componentes dentro de la matriz, como el ácido hialurónico y el complejo distrofina-glucoproteína, contribuyen a la resistencia y promueven la invasión. Además, estas células madre sobreexpresan los transportadores del casete de unión a ATP, que bombean toxinas extrañas fuera de la célula, lo que les confiere resistencia a múltiples fármacos (14).

Se ha demostrado que las células que expresan CD133, un marcador de superficie celular altamente asociado con las células madre gliales, expresan O6-metilguanina-ADN metiltransferasa a niveles 32 a 56 veces mayores que los de las células CD133 negativas, lo que ayuda a explicar la relativa ineficacia del quimioterapéutico estándar temozolomida (14).

También se ha observado radiorresistencia en las células madre gliales, donde la presencia de una alta proporción de células madre tumorales se correlaciona con una mayor radiorresistencia tumoral, y además, se ha informado que las células CD133 positivas son resistentes a la apoptosis inducida por radioterapia in vitro (14).

Los microambientes hipóxicos contribuyen al crecimiento preferente de células madre gliales, lo que puede reducir el estrés oxidativo producido por la radiación. La radiorresistencia de estas células también es conferida tanto por la activación mediada por hipoxia de las enzimas de respuesta del punto de control del daño del ADN Chk 1/2, así como por la inducción de la autofagia, la cual procesa y elimina las partes constituyentes de las células dañadas por la radiación (14).

EPIDEMIOLOGÍA

Actualmente no existen muchos datos referentes a gliomas en México, sin embargo, en un estudio retrospectivo realizado durante el periodo de 1995 a 2014 en astrocitomas de 2,287 pacientes del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de México, se encontró que el 81.1 % de los tumores astrocíticos correspondían a gliomas de alto grado, de los cuales, el 57.2 % correspondían a gliomas grado 4 y 23.9 % a gliomas grado 3, con promedio de edades de 42 y 50 años, respectivamente (16).

En cuanto a sitios de afección, Anaya-delgadillo y colaboradores encontraron que, en México, el lóbulo frontal es el sitio más comúnmente afectado por gliomas (15).

TRATAMIENTO ESTÁNDAR

El tratamiento estándar de los gliomas de alto grado fue desarrollado por Roger Stupp en el año 2005, conocido como protocolo Stupp, se compone de cirugía y radioterapia aunada a quimioterapia. En su protocolo, Stupp encontró que la tasa de supervivencia a dos años fue del 26.5 % con radioterapia más temozolomida y del 10.4 % con radioterapia sola. El tratamiento concomitante con radioterapia más temozolomida resultó en efectos tóxicos hematológicos de grado 3 ó 4 en el 7 % de los pacientes. Por lo que Stupp concluyó que la adición de temozolomida a la radioterapia para los glioblastomas recién diagnosticados resultó en un beneficio de supervivencia clínica y estadísticamente significativa, con una toxicidad adicional mínima (18).

PRONÓSTICO

Los gliomas de alto grado son neoplasias que crecen y se extienden rápidamente por todo el sistema nervioso central. Actualmente no hay cura para estos tumores, sin embargo, la cirugía, la radiación y las terapias dirigidas pueden retrasar el crecimiento del tumor y ayudar a aliviar los síntomas.

Las tasas de supervivencia de los gliomas de alto grado varían según varios factores, como el tipo y grado del tumor, así como la edad del paciente. Cuanto mayor es el paciente en el momento del diagnóstico y tratamiento, peor tiende a ser su pronóstico. Por ejemplo, los gliomas grado 4 tienen un tiempo de supervivencia media de poco más de un año, con un bajo número de personas que sobreviven cinco años después del diagnóstico.

A pesar del tratamiento estándar con resección quirúrgica máxima, radioterapia, quimioterapia adyuvante con temozolomida y campos de pulsos eléctricos, la mediana de supervivencia sigue siendo de solo 14.6 meses (14).

Piper y colaboradores encontraron que las poblaciones subclonales de células que quedan después de la resección macroscópica total dan como resultado recurrencia y resistencia del tumor, lo que naturalmente confiere peor pronóstico. Por lo que actualmente se cree que la falta de mejora en la supervivencia de gliomas de alto grado se puede atribuir, en parte, a la incapacidad de las terapias actuales para atacar las células madre de glioma (14).

Morrison y colaboradores encontraron que los pacientes con sobreexpresión de RAD51 mostraban una sobrevida promedio de 13.8 meses, mientras que la sobrevida promedio en pacientes con bajos niveles de RAD51 fue de 17.4 meses (10).

INHIBIDORES DE RAD51

Debido a la ineficacia del tratamiento y al mal pronóstico que muestran los pacientes con gliomas de alto grado, se han estado buscando nuevas alternativas o complementos al tratamiento estándar, en donde entre otras, RAD51 es una molécula en una vía metabólica que cobra relevancia clínica como potencial blanco terapéutico.

Los inhibidores de moléculas pequeñas de RAD51, como B02 y RI-1, han sido desarrollados y puestos a prueba en células de glioma, los cuales se han visto que inhiben la formación de focos de RAD51, lo que induce

sensibilización a la radioterapia e inmunoterapia. Donde B02 afecta a la interacción de RAD51 con la cadena de ADN afectada durante la formación de filamentos de nucleoproteínas y en su sitio de unión secundario con el ADN (12).

Li y colaboradores encontraron que la sobreexpresión de RAD51 mejoró la capacidad de proliferación y migración de la clona U251 de células de glioma, además de aumentar la expresión de P53. Por otro lado, la caída de RAD51 disminuyó la expresión de P53; mientras que la eliminación de RAD51 mejoró la sensibilidad de esas células a la temozolomida (17).

Russell y colaboradores pusieron a prueba al fármaco Gleevec, un inhibidor de la tirosina cinasa c-Abl, el cual se ha visto que puede jugar un papel en la regulación de RAD51. Utilizaron dos líneas celulares de glioma humano y una línea celular de fibroblastos humanos, donde primero fueron expuestas a radiación, observando un aumento de RAD51 en ambas líneas celulares de glioma, las cuales posteriormente se sometieron a tratamiento con el fármaco, el cual disminuyó significativamente los niveles de RAD51 en ambas líneas celulares de glioma; y concordante con esto, al ser pretratadas con Gleevec, ambas líneas celulares de glioma mostraron un aumento de la radiosensibilidad; sin embargo, contrario a lo visto en las líneas celulares de glioma, no hubo cambios en la expresión de RAD51 en la línea celular de fibroblastos normales al ser expuestas a las mismas dosis de radiación y de Gleevec (20).

ANTECEDENTES

Wang y colaboradores encontraron expresión significativamente aumentada de RAD51 en tejidos con glioma de alto grado en comparación con los tejidos cerebrales normales, donde la expresión alta de RAD51 además se ha asociado con un peor pronóstico en pacientes con gliomas de alto grado. Por otro lado, la inhibición de la función de RAD51 ha demostrado reducción en el crecimiento y la supervivencia de las células de gliomas de alto grado en cultivos celulares y modelos animales (5).

De igual forma, Chen y colaboradores encontraron que la expresión de RAD51 se encontraba aumentada en tejidos con glioma de alto grado en comparación con los tejidos cerebrales normales, y que esa expresión alta de RAD51 se asoció con un peor pronóstico en pacientes con gliomas de alto grado. Además, los autores encontraron que la inhibición de la función RAD51 redujo el crecimiento y la migración de células de glioma de alto grado en cultivos celulares (7).

Tachon et al. encontraron que RAD51 es regulado significativamente en las células madre de glioblastomas después de ser irradiadas, y que la inhibición de RAD51 conduce a una disminución de la proliferación celular y a un aumento de la apoptosis (muerte celular) en esas células (8). Estos hallazgos sugieren que RAD51 puede ser un objetivo potencial para desarrollar tratamientos para los gliomas de alto grado.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los gliomas de alto grado son las neoplasias intraaxiales primarias del sistema nervioso central más comunes en el mundo y en México, los cuales, han demostrado consistentemente un comportamiento biológico agresivo a pesar del tratamiento estándar con cirugía, radioterapia y quimioterapia, por lo que es necesario investigar, justificar e implementar nuevas alternativas y adyuvancias.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la expresión de RAD51 en gliomas de alto grado en un hospital de concentración del noreste de México?

JUSTIFICACIÓN

Considerando que RAD51 se trata de un gen y una proteína que al sobreexpresarse le confiere a las células gliales tumorales resistencia a la quimioterapia y radioterapia, esto lo hace un potencial blanco terapéutico para su inhibición, por lo que se han desarrollado anticuerpos anti-RAD51 (inhibidores RAD51) que han demostrado inducción de radiosensibilización en dichas células y que actualmente se encuentran en estudios de ensayo clínico para su posible implementación a la práctica oncológica. Al mismo tiempo, esto significa que el conocer la prevalencia de la sobreexpresión de esta molécula en gliomas de alto grado en nuestro medio, resultaría de gran utilidad para justificar su integración como marcador biológico pronóstico y su futura terapia blanco.

HIPÓTESIS

NULA

No existe sobreexpresión de RAD51 en gliomas de alto grado en nuestro medio.

ALTERNATIVA

Existe sobreexpresión de RAD51 en gliomas de alto grado en nuestro medio.

OBJETIVOS

OBJETIVO PRIMARIO

Determinar la expresión de RAD51 en los gliomas de alto grado.

OBJETIVO SECUNDARIO

Clasificar los casos de gliomas de alto grado por sexo y grupos de edad.

MATERIAL Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO:

Descriptivo, retrospectivo y observacional.

POBLACIÓN DE ESTUDIO:

A.- Criterios de inclusión

Pacientes de ambos sexos y de todas las edades registrados y diagnosticados en el sistema Pathox como “glioblastoma”, “glioblastoma multiforme”, “glioma grado IV” o “glioma grado 4” por un patólogo interno.

B.- Criterios de exclusión

Casos de repetición (recidivas, recaídas y tumores residuales).

Casos con tejido tumoral en bloques de parafina ausente, insuficiente o inadecuado para realizar los estudios de inmunohistoquímica.

C.- Lugar de referencia y método de reclutamiento

El estudio se realizó en el servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

D.- Variables independientes

- Puntaje H-score de RAD51: la medición semicuantitativa de la inmunohistoquímica.
- Sexo: la estratificación de los resultados por sexo.
- Edad: la estratificación de los resultados por edad.

E.- Variable dependiente

- Glioma de alto grado: la neoplasia maligna de células gliales del SNC.
- Sobreexpresión de RAD51: la expresión por arriba del tejido glial no neoplásico.

ASPECTOS ÉTICOS

En conformidad con el artículo 16 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para La Salud y al punto 12.3 de la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, el servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” utiliza un sistema interno de enumeración de casos, de tal forma que se evita el manejo de datos de identificación personales del paciente, lo cual procura su confidencialidad. De igual manera, únicamente el personal de la salud interno de este servicio tiene acceso a dicho sistema.

De acuerdo con lo estipulado en el artículo 17 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación Para la Salud, este protocolo se categoriza como una investigación sin riesgo, considerando que se trata de un estudio retrospectivo, donde no se hace intervención o modificación de las variantes fisiológicas, psicológicas o sociales de pacientes o sujetos.

En conformidad al Artículo 14 del Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación Para la Salud y al punto 9.2.8 de la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012, este protocolo será sometido al Comité de Ética en Investigación y Comité de Investigación del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” para su evaluación y aprobación.

DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA DEL ESTUDIO

1.- Se realizará búsqueda de diagnósticos realizados en el transcurso de los años 2013 a 2022 en el sistema digital Pathox, donde se recabarán los casos de los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión.

2.- Se realizará una base de datos digital de los casos recabados en el programa Excel, donde se excluirán aquellos casos de repetición.

3.- Se realizará búsqueda física de laminillas de cada caso en el archivo del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología, donde se recabarán para posteriormente ser analizadas por el patólogo mediante microscopía de luz.

4.- Se realizará búsqueda física de los bloques de tejido en parafina correspondientes a las laminillas elegidas en el archivo del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología, donde se recabarán para posteriormente ser analizados y elegidos en función de su disponibilidad y cantidad de tejido, siempre procurando no agotar el tejido.

5.- Una vez aplicados todos los criterios de inclusión y de exclusión, se calculará el tamaño de la muestra (proceso descrito en su propio apartado).

6.- El patólogo elegirá las áreas tumorales más adecuadas para realizar los estudios por inmunohistoquímica, circulando dichas áreas sobre las laminillas.

7.- Se realizará entrega de los bloques y laminillas elegidas a los técnicos encargados de realizar tinciones de inmunohistoquímica, quienes inicialmente introducirán los bloques de tejido en parafina al equipo "TMA Master", el cual realizara microarreglos histológicos en nuevos bloques de parafina a partir del tejido elegido.

8.- Posteriormente se utilizará el equipo de tinción de inmunohistoquímica “Ventana Medical System”, el cual se encargará de la aplicación automatizada del anticuerpo monoclonal F11 contra RAD51 de Santa Cruz Biotechnology.

9.- Una vez terminado el proceso automatizado de inmunohistoquímica, se entregará al patólogo las laminillas con sus correspondientes microarreglos de tejido teñidas con anticuerpo y cromógeno.

10.- Dos patólogos procederán a hacer un análisis de las laminillas de forma independiente, primero en función a control de calidad, asegurándose que el tejido y la tinción sean adecuadas, y posteriormente, realizarán una evaluación histoquímica semicuantitativa (*H-score*) de los focos de expresión nuclear o citoplasmática de RAD51. Dicha evaluación se hará individualmente (caso por caso) al calcular el porcentaje de células tumorales positivas, multiplicándolo por la intensidad de la tinción en un aumento de 200x (la cual se asignará con puntajes de 0, 1, 2 ó 3 cruces), obteniéndose así un puntaje final de 0 a 300 puntos. Se sumará el puntaje de ambos patólogos y se promediará, para así llegar a un H-score final, el cual se comparará con tejido glial cerebral no patológico, para así concluir si existe o no sobreexpresión de RAD51 en cada uno de los casos.

11.- Una vez finalizado el procesamiento y análisis de bloques y laminillas, estas se devolverán para ser almacenadas en el archivo de bloques y laminillas del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

12.- Finalmente se realizará un análisis estadístico integral de los datos utilizando el software “SPSS Statistic Data Editor” v.29 de IBM, para después

dar interpretación a los resultados y llegar a una conclusión.

CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se utilizó la fórmula de prevalencia en una población finita de 84 pacientes (valor de N) con el objetivo principal de evaluar la expresión del marcador de inmunohistoquímica RAD51 en el tejido tumoral con diagnóstico de glioma grado 4 y sus equivalentes de pacientes registrados en el sistema Pathox del servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”. Se llegó a dicha población de pacientes al filtrar aquellos que cumplieron con los criterios de inclusión y aquellos que no cumplieron con criterios de exclusión. Tomándose como referencia a los resultados de la investigación realizada por James W Welsh y colaboradores, con una prevalencia de sobreexpresión esperada de RAD51 en gliomas grado 4 y sus equivalentes del 53 % (valor de P) (19). Estableciéndose un nivel de confianza del 95 %, y por lo tanto, un valor de Z de 1.96. Obteniendo así un tamaño de muestra de 69 pacientes (valor de n).

Parametro	Insertar Valor
N	84
Z	1.960
P	53.00%
Q	47.00%
e	5.00%

$$n = \frac{N * Z_{\alpha}^2 * p * q}{e^2 * (N - 1) + Z_{\alpha}^2 * p * q}$$

Figura 2. Valores y ecuación utilizada en el cálculo del tamaño de muestra.

RESULTADOS

En el análisis descriptivo del sexo de los pacientes, 40.5 % de casos correspondieron a pacientes femeninos y 59.4 % a pacientes masculinos.

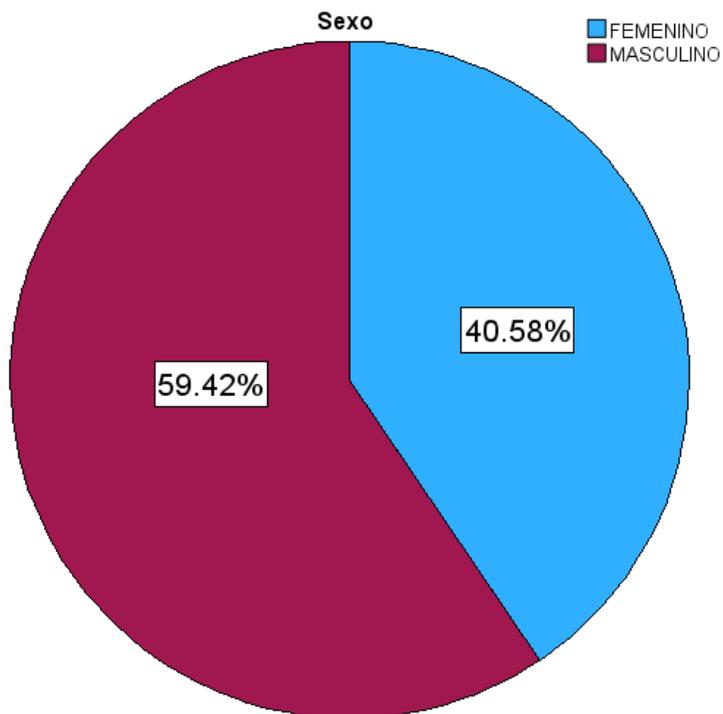


Figura 3. Gráfica de recuento por sexo.

	Frecuencia	Porcentaje
FEMENINO	28	40.6
MASCULINO	41	59.4
Total	69	100.0

Tabla 1. Recuento por sexo.

En el análisis descriptivo de la edad de los pacientes, el promedio de edad fue de 53.97 años, con una edad mínima de 2 años y una edad máxima de 79, obteniéndose así un rango de edad de 77 años. La mediana fue de 57 años, mientras que en la moda se obtuvieron 8 edades, cada una con una frecuencia de 3 casos, correspondientes a 51, 52, 57, 59, 61, 68, 69 y 70 años.

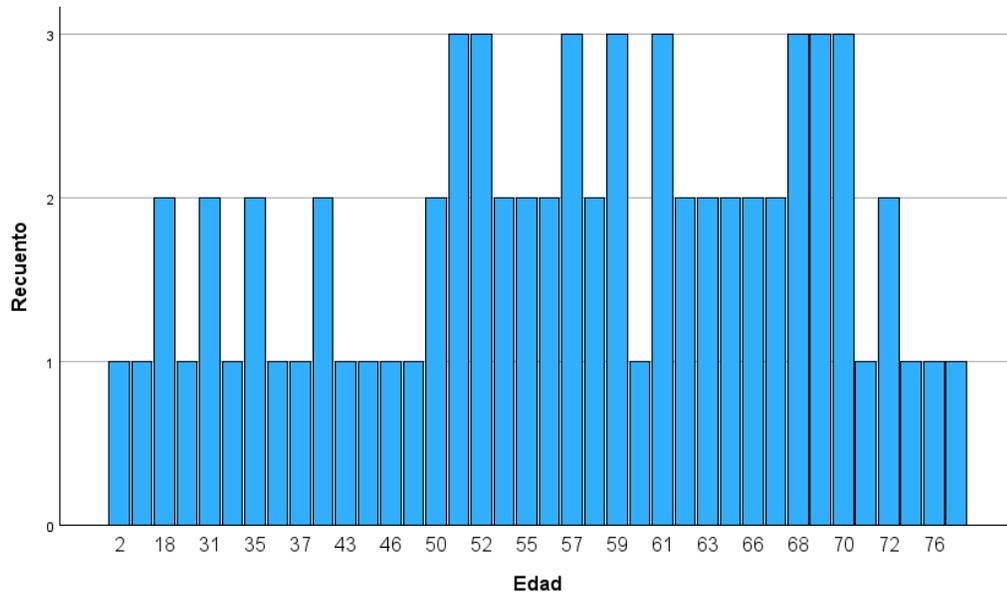


Figura 4. Gráfica de recuento de edades.

Edad		
N	Válido	69
	Perdidos	0
Media		53.97
Mediana		57.00
Moda		51
Desv. estándar		16.357
Rango		77
Mínimo		2
Máximo		79
Percentiles	25	46.50
	50	57.00
	75	66.50

Tabla 2. Distribución de edad.

En el análisis descriptivo del puntaje H-score de cada caso, se obtuvo un puntaje promedio de 54.86 puntos, con un puntaje mínimo de 0 puntos y un puntaje máximo de 190 puntos, obteniendo así un rango de 190 puntos. La mediana fue de 45 puntos, mientras que en la moda se obtuvo una frecuencia de 9 casos con 0 puntos.

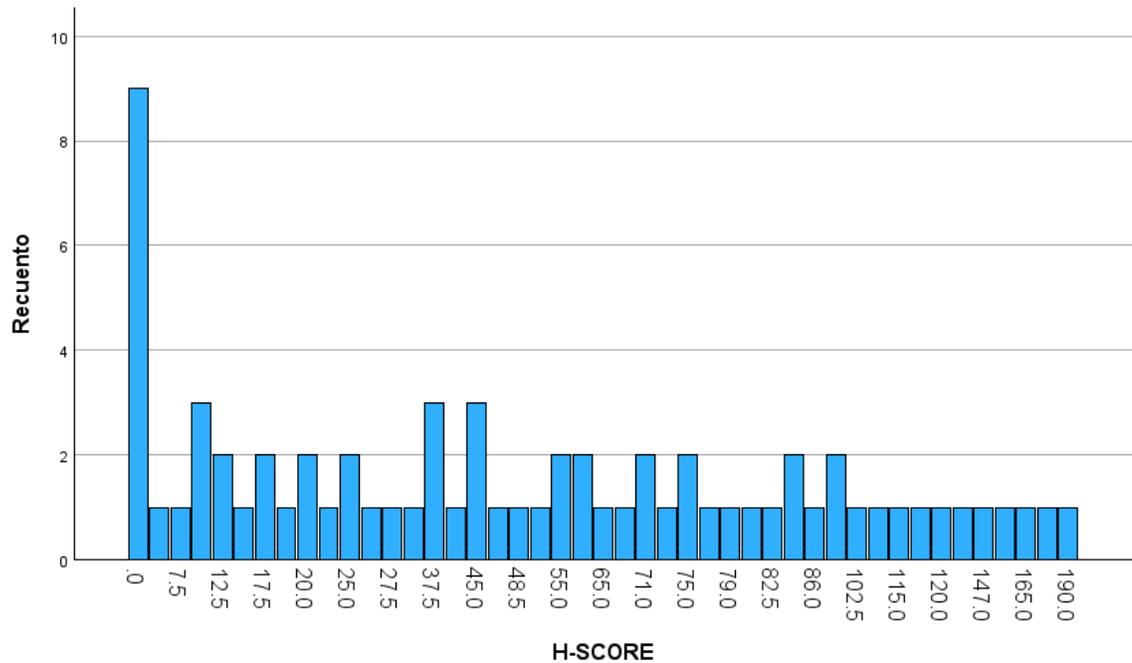


Figura 5. Gráfica de recuento de H-score.

H-SCORE		
N	Válido	69
	Perdidos	0
Media		54.862
Mediana		45.000
Moda		.0
Desv. estándar		47.7874
Rango		190.0
Mínimo		.0
Máximo		190.0
Percentiles	25	16.250
	50	45.000
	75	81.250

Tabla 3. Distribución de H-score.

Para determinar la distribución de datos del puntaje H-score, se utilizó la prueba de Shapiro-Wilk, en la cual se obtuvo un valor de 0.9 con significancia estadística, por lo que se puede inferir que estos datos no tienen una distribución de normalidad.

	Shapiro-Wilk	p
H-SCORE	0.9	<.001

Tabla 4. Prueba de Shapiro-Wilk.

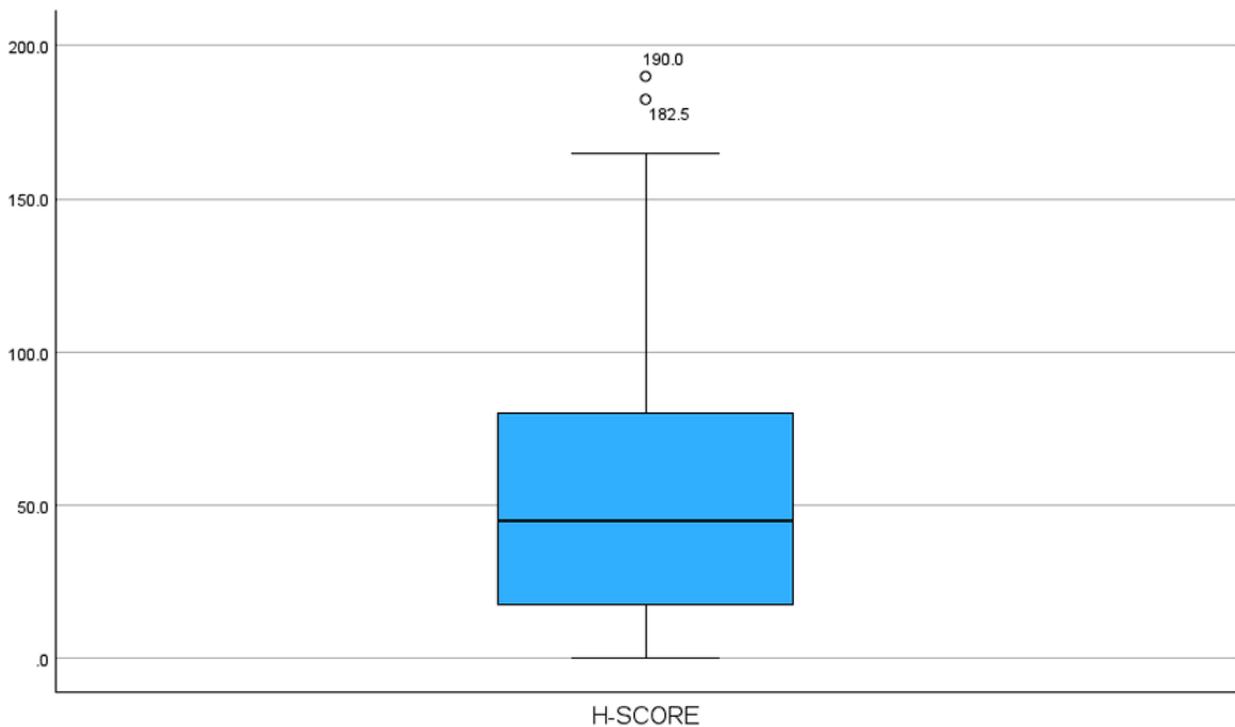


Figura 6. Gráfica de distribución de H-score.

		Percentiles		
		25	50	75
Promedio ponderado	H-SCORE	16.250	45.000	81.250

Tabla 5. Cuartiles de H-score.

En el análisis descriptivo de la sobreexpresión de RAD51, se determinó que el 87 % de los casos mostraron sobreexpresión de RAD51, mientras que el 13 % mostró ausencia de sobreexpresión.

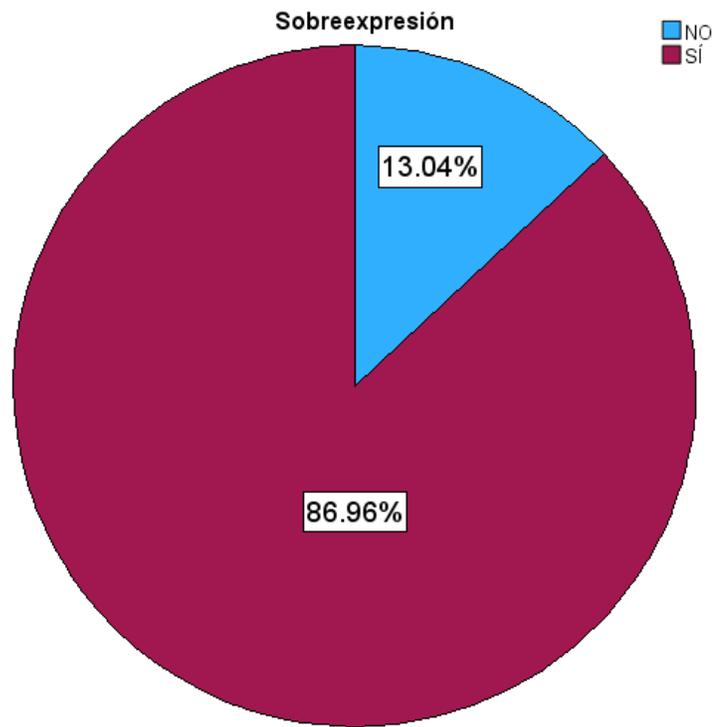


Figura 7. Gráfica de recuento de sobreexpresión.

	Frecuencia	Porcentaje
NO	9	13.0
Sí	60	87.0
Total	69	100.0

Tabla 6. Recuento de sobreexpresión.

Agrupando la sobreexpresión por sexo, el 92.9 % de pacientes femeninos mostró sobreexpresión, mientras que el 82.9 % de pacientes masculinos tuvo sobreexpresión, representando al 37.68 % y 49.28 % de todos los casos, respectivamente.

Sexo		Sobreexpresión		Total
		NO	SÍ	
Femenino	Recuento	2	26	28
	Recuento esperado	3.7	24.3	28.0
	% dentro de Sexo	7.1%	92.9%	100.0%
Masculino	Recuento	7	34	41
	Recuento esperado	5.3	35.7	41.0
	% dentro de Sexo	17.1%	82.9%	100.0%

Tabla 7. Sobreexpresión por sexo.

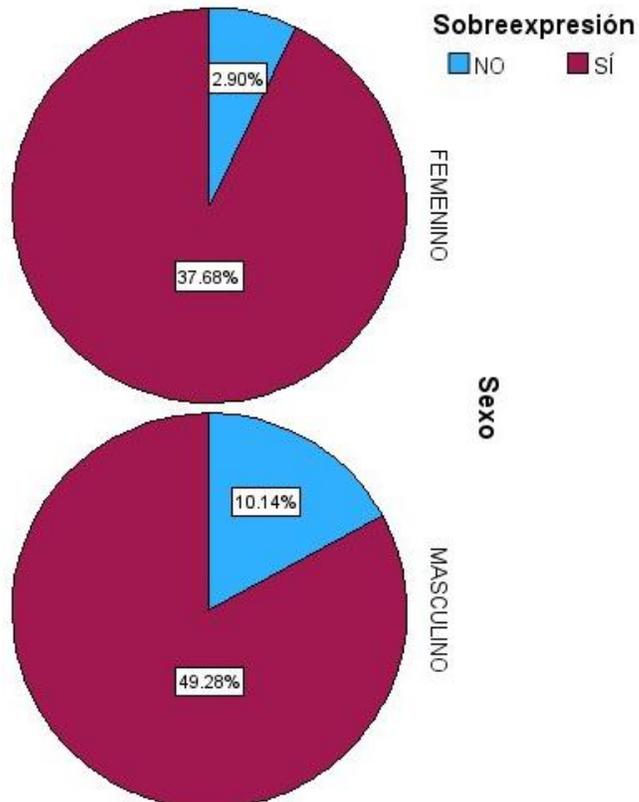


Figura 8. Gráfica de recuento de sobreexpresión por sexo.

Para el análisis inferencial del sexo de los pacientes en relación con la sobreexpresión de RAD51, se realizó una prueba exacta de Fisher, la cual, resultó estadísticamente no significativa, por lo que se mantiene la hipótesis nula de esta prueba, que postula que no existe asociación significativa entre estas dos variables.

	p exacta (bilateral)	p exacta (unilateral)
Prueba exacta de Fisher	0.294	0.203

Tabla 8. Prueba exacta de Fisher.

Para el análisis inferencial de la edad de los pacientes en relación con la sobreexpresión de RAD51, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney, la cual, resultó estadísticamente no significativa, por lo que se mantiene la hipótesis nula de esta prueba, que postula que no existe diferencia en la edad de los pacientes con sobreexpresión comparado con la edad de los pacientes sin sobreexpresión

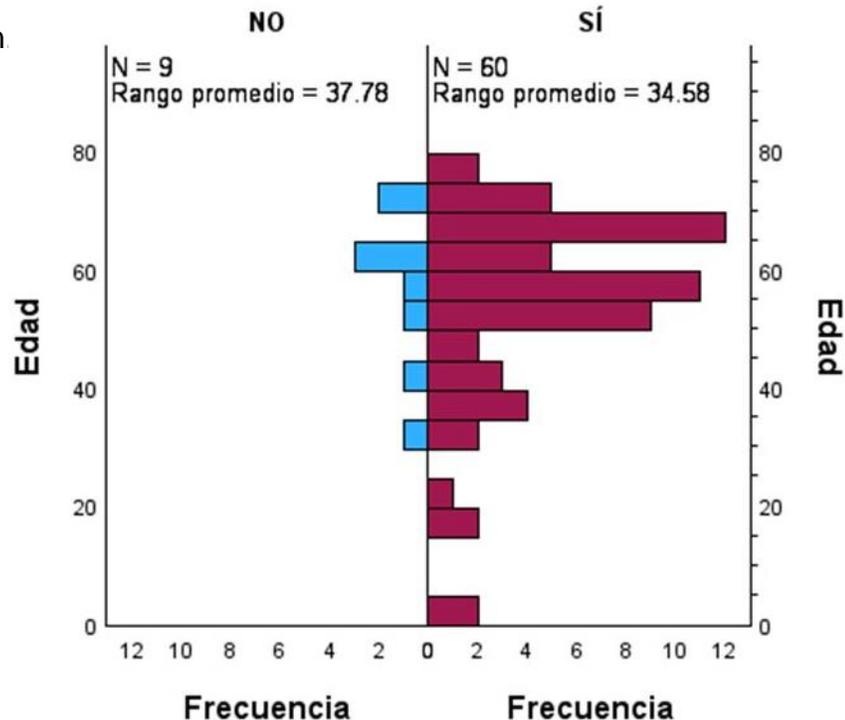


Figura 9. Gráfica de recuento de edades por grupo de sobreexpresión.

N total	69
U de Mann-Whitney	245
W de Wilcoxon	2075
Error estándar	56
p	0.656

Tabla 9. U de Mann-Whitney de edad vs sobreexpresión.

Para evaluar si la edad y el sexo de los pacientes, en conjunto, pudieran tener una relación con la sobreexpresión de RAD51, se realizó una regresión logística, en donde se obtuvo una R al cuadrado de Nagelkerke de 0.048, lo que establecería una relación del 4.8 % entre las variables de sexo y edad con la sobreexpresión de RAD51, sin embargo, los valores de p resultaron en insignificancia estadística, por lo que no se puede rechazar la hipótesis nula de esta prueba, que dicta que las variables independientes (sexo y edad) no tienen efecto sobre la variable dependiente (sobreexpresión).

Logaritmo de la verosimilitud -2	R cuadrada de Cox y Snell	R cuadrada de Nagelkerke
51.610	0.026	0.048

Tabla 10. R al cuadrado de Nagelkerke.

Observado		Pronosticado		Porcentaje correcto
		Sobreexpresión NO	SÍ	
Sobreexpresión	No	0	9	0.0
	Sí	0	60	100.0
Porcentaje global				87.0

Tabla 11. Sobreexpresión pronosticada con sexo y edad.

	Error estándar	p	Razón de momios	95% I.C.	
				Inferior	Superior
Edad	.025	.611	.987	.941	1.037
Sexo	.844	.246	.376	.072	1.967

Tabla 12. Efecto de edad y sexo vs sobreexpresión.

De forma similar, se investigó la posibilidad de que la edad y el sexo pudieran tener una relación con el H-score, por lo que se realizó la prueba de la U de Mann-Whitney, así como el coeficiente de correlación de Spearman, respectivamente; sin embargo, los valores de p obtenidos en ambas pruebas demostraron que estos hallazgos no son estadísticamente significativos.

H-SCORE	
U de Mann-Whitney	539.500
W de Wilcoxon	945.500
Z	-.422
p	.673

Tabla 13. U de Mann-Whitney de sexo vs H-score.

	Sexo	N	Promedio de rangos	Suma de rangos
H-SCORE	Femenino	28	33.77	945.50
	Masculino	41	35.84	1469.50
	Total	69		

Tabla 14. Rangos de H-score.

			Edad	H-SCORE
Rho de Spearman	Edad	Coeficiente de correlación	1.000	-.082
		p	-	.501
		N	69	69
	H-SCORE	Coeficiente de correlación	-.082	1.000
		p	.501	-
		N	69	69

Tabla 15. Rho de Spearman.

DISCUSIÓN

Si bien es cierto que se encontró sobreexpresión significativa de RAD51 en gliomas de alto grado en este hospital de concentración del noreste de México, y que además resultó ser significativamente mayor a la reportada en otras poblaciones, como aquella reportada en el estudio de Walsh y colaboradores, también se debe de tomar en cuenta una serie de factores que pueden estar sesgando nuestra metodología y nuestros resultados.

Primero, surge la pregunta ¿por qué obtuvimos una sobreexpresión tan alta en comparación a estudios previos?, donde se debe de tomar en cuenta factores preanalíticos y factores analíticos. Dentro de los factores preanalíticos se encuentra la biología intrínseca de los pacientes y el tejido tumoral, además del ambiente en el que se encuentra ese paciente y ese tejido, es decir, posibles tratamientos, dieta, inflamación, estrés oxidativo, isquemia, etc., así como el procesamiento del tejido.

Dentro de los factores analíticos se debe de tomar en cuenta desde la evaluación, el análisis y la interpretación del material. Si bien no contamos con mucha de la información valiosa preanalítica (a excepción de la edad y sexo de los pacientes), dentro del procesado del tejido, resalta el hecho de que nosotros utilizamos un anticuerpo monoclonal nuevo (clona F11), mientras que en el estudio de Welsh y colaboradores se utilizó un anticuerpo policlonal de mayor antigüedad (clona H-29).

Relacionado a los factores preanalíticos, se considera que la presencia de procesos inflamatorios, oxidativos o isquémicos extrínsecos a la biología del

propio tejido tumoral, son capaces de inducir expresión de RAD51 en células tumorales y no tumorales, lo que puede ser un confusor al momento evaluar la tinción de inmunohistoquímica y al analizar los resultados. A pesar de esto, no fue posible determinar qué proporción de la expresión visualizada en la tinción de inmunohistoquímica fue secundaria a procesos extrínsecos a la biología tumoral, por lo que se evaluó y se reportó toda expresión que fuera perceptible por los dos patólogos.

Otro problema que surgió durante el procesado del material, específicamente durante la técnica de inmunohistoquímica con el anticuerpo policlonal F11 contra RAD51, fue el hecho de que no se logró obtener una tinción con patrón nuclear, si no que solo se logró obtener tinción de patrón citoplasmático. Esto es relevante, ya que la tinción nuclear de RAD51 es más específica que la citoplasmática. Este problema se puede deber a aspectos técnicos del protocolo de inmunohistoquímica, a defectos del propio anticuerpo o incluso a tejido inadecuado; sin embargo, este último resulta ser poco probable, ya que no se logró una tinción nuclear después de realizar distintos protocolos sobre una variedad de distintos tejidos, incluyendo a los 69 casos distintos de gliomas de alto grado.

En cuanto a el objetivo secundario, se decidió realizar análisis estadístico directamente en relación con las edades individuales de cada paciente, sin agruparlos, esto se debe a que los datos individuales de las edades proveen información estadística más precisa comparado con grupos de edades, ya que al agrupar las edades se pierde la granularidad individual de los datos y se comienza a generalizar, lo que puede llevar a un análisis y resultado sesgado.

Otra razón es la falta de una muestra robusta y representativa de cada grupo de edad, es decir, primero es necesario obtener una cantidad adecuada de pacientes que tengan la edad representativa de cada grupo, lo cual, no es el caso de nuestra muestra, ya que solo disponemos de dos pacientes infantiles y técnicamente ningún paciente adolescente, mientras que el resto está representado por adultos y adultos de la tercera edad.

De forma similar, surge otra pregunta con relación al objetivo secundario, ¿por qué no se obtuvo significancia estadística en los análisis de sexo y edad con relación al H-score y la sobreexpresión de RAD51? Si bien es cierto que es posible que esas variables independientes en realidad no tengan efecto, se debe considerar que esas variables en realidad pudieran estar teniendo un efecto muy pequeño sobre el H-score y sobreexpresión, tan pequeño, que posiblemente nuestro tamaño de muestra no sea lo suficientemente robusto para detectar un efecto estadísticamente significativo. Sin embargo, otro factor que pudiera ser contribuyente es una muestra con alta variabilidad o dispersión de los datos, así como los datos atípicos o extremos, lo cual, en conjunto, puede llegar a causar distorsión del análisis de los datos y de los resultados.

CONCLUSIÓN

Finalmente, se logró rechazar la hipótesis nula de este estudio y se afirma que sí existe sobreexpresión de RAD51 en gliomas de alto grado en nuestro medio. Encontrándose como hallazgo adicional secundario, que las variables de sexo y edad no tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el H-score ni sobre la sobreexpresión de RAD51 en estos tumores. Sin embargo, esto se debe de interpretar tomando en cuenta una serie de factores adicionales previamente discutidos, los cuales, pudieran estar contribuyendo a los resultados de este estudio. Por lo tanto, se recomienda indagar en los factores y variables faltantes para llegar a un mejor entendimiento de la expresión de RAD51 en estos tumores.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kanaar R., Wyman C., Petrini JHJ. Homologous recombination: a simple mechanism with complex functions. *Cell*. 2018;173(5):1030-1046.
2. Keeney S., Kanaar R. RAD51: the guardian of genome stability. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2014;15(11):673-686.
3. Chen J., Chen DJ. DNA repair proteins and breast cancer susceptibility. *Oncogene*. 2005;24(39):6036-6045.
4. Foulkes WD., Smith IE., Reis-Filho JS. BRCA1 and BRCA2: breast-cancer susceptibility genes. *Lancet*. 2010;376(9745):1189-1199.
5. Wang, J., Zhao, Y., He, L., & Li, Y. (2017). RAD51, a potential therapeutic target for glioma treatment. *Oncology letters*, 14(1), 213-218.
6. Kanemaki M., Saito H., Okayama H. Structure, function, and regulation of RAD51 family proteins. *Cell Mol Life Sci*. 2016;73(21):4153-4170.
7. Chen, C., Lu Y., & Zhang Y. (2019). RAD51 as a potential therapeutic target for glioma. *Oncology letters*, 17(1), 55-62.
8. Tachon, G., Cortes, U., Guichet, P. O., Rivet, P., Balbous, A., Masliantsev, K., Berger, A., Boissonnade, O., Wager, M., & Karayan-Tapon, L. (2018). Cell Cycle Changes after Glioblastoma Stem Cell Irradiation: The Major Role of RAD51. *International journal of molecular sciences*, 19(10), 3018. <https://doi.org/10.3390/ijms19103018>.
9. Sun, Qiang & Li, Jichen & Wang, Rui & Sun, Tiantian & Zong, Yanjun & Wang, Congcong & Liu, Ying & Li, Xiaoliang & Song, Yang & Zhang, Yong. (2023). Coxsackievirus A6 Infection Causes Neurogenic Pathogenesis in a Neonatal Murine Model. *Viruses*. 15. 511. [10.3390/v15020511](https://doi.org/10.3390/v15020511).
10. Morrison C., Weterings E., Mahadevan D., Sanan A., Weinand M., & Stea B. (2021). Expression Levels of RAD51 Inversely Correlate with Survival of Glioblastoma Patients. *Cancers*, 13(21), 5358. <https://doi.org/10.3390/cancers13215358>.
11. Shkundina, I. S., Gall, A. A., Dick, A., Cocklin, S., & Mazin, A. V. (2021). New RAD51 Inhibitors to Target Homologous Recombination in Human Cells. *Genes*, 12(6), 920. <https://doi.org/10.3390/genes12060920>.
12. King, H. O., Brend, T., Payne, H. L., Wright, A., Ward, T. A., Patel, K., ... & Short, S. C. (2017). RAD51 is a selective DNA repair target to radiosensitize glioma stem cells. *Stem cell reports*, 8(1), 125-139. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2016.12.005>.
13. King, H. O., Brend, T., Payne, H. L., Wright, A., Ward, T. A., Patel, K., Egnuni, T., Stead, L. F., Patel, A., Wurdak, H., & Short, S. C. (2017). RAD51 Is a Selective DNA Repair Target to Radiosensitize Glioma Stem Cells. *Stem cell*

reports, 8(1), 125–139. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2016.12.005>.

14. Piper, K., DePledge, L., Karsy, M., & Cobbs, C. (2021). Glioma Stem Cells as Immunotherapeutic Targets: Advancements and Challenges. *Frontiers in oncology*, 11, 615704. <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.615704>.

15. Anaya-Delgado, G., de Juambelz-Cisneros, P. P., Fernández-Alvarado, B., Pazos-Gómez, F., Velasco-Torre, A., & Revuelta-Gutiérrez, R. (2016). Prevalencia de tumores del sistema nervioso central y su identificación histológica en pacientes operados: 20 años de experiencia. *Cirugía y Cirujanos*, 84(6), 447-453.

16. Aguirre-Cruz, L., Rodríguez-Pérez, C. E., de la Cruz-Aguilera, D. L., Acosta-Castillo, G. I., Ruano-Calderón, L., Martínez-Moreno, M., & Sotelo, J. (2020). Epidemiología descriptiva y cambios en la frecuencia de tumores astrocíticos en el Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía de México. *Salud Pública de México*, 62(3), 255-261. <https://doi.org/10.21149/10680>.

17. Li Q., Ru Y., Wang Q., Lyu W., Hu W., Fei Z., Li X., Lin W. [RAD51 promotes proliferation and migration of glioblastoma cells and decreases sensitivity of cells to temozolomide]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*. 2019 Sep;35(9):817-822. Chinese. PMID: 31750824.

18. Stupp R., Mason WP., van den Bent MJ., Weller M., Fisher B., Taphoorn MJ., Belanger K., Brandes AA., Marosi C., Bogdahn U., Curschmann J., Janzer RC., Ludwin SK., Gorlia T., Allgeier A., Lacombe D., Cairncross JG., Eisenhauer E., Mirimanoff RO; European Organisation for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor and Radiotherapy Groups; National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005 Mar 10;352(10):987-96. PubMed PMID: 15758009.

19. Welsh JW, Ellsworth RK, Kumar R, Fjerstad K, Martinez J, Nagel RB, Eschbacher J, Stea B. Rad51 protein expression and survival in patients with glioblastoma multiforme. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2009 Jul 15;74(4):1251-5. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.03.018. PMID: 19545791.

20. Russell JS, Brady K, Burgan WE, Cerra MA, Oswald KA, Camphausen K, Tofilon PJ. Gleevec-mediated inhibition of Rad51 expression and enhancement of tumor cell radiosensitivity. *Cancer Res*. 2003 Nov 1;63(21):7377-83. PMID: 14612536.

RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Mauricio Gonzalo Alanis Arredondo es un chico que nació en Monterrey, Nuevo León, México, hijo de Gonzalo Alanis González, un comerciante de carros y de bienes raíces, además de Claudia Alanis Arredondo, una ama de casas. Él inicialmente creció en un departamento en los suburbios de Monterrey, acompañado de su hermano y hermana mayor, quienes rápidamente se mudarían a una casa propia en San Pedro Garza García, donde Mauricio formaría la gran mayoría de sus memorias y recuerdos de la infancia. Es allí, en la acogedora vecindad de la colonia de San Agustín, que Mauricio forjaría bellas amistades, aprendería a usar la bicicleta, la patineta y los patines, donde jugaría fútbol con sus amigos hasta el cansancio y haría su tarea por las tardes. Mauricio se educó en el Liceo de Monterrey, una institución prestigiosa que, desde maternal hasta la secundaria, lo instruiría con las bases de la religión católica, donde conocería amigos de toda la vida y maestros inolvidables.

Mauricio inicialmente era un estudiante mediocre, quien prefería divertirse y simplemente evitarse de problemas con sus papás, por lo que solo aprendía lo que era necesario y no se esforzaba por lograr más. Al mismo tiempo, Mauricio aún no forjaba una noción de responsabilidad, aptitud y competencia, por lo que su desempeño académico durante la primaria y la secundaria no fue particularmente destacable. No fue hasta que él decidió hacer un cambio de ecosistema, al salir del Liceo de Monterrey y entrar a la preparatoria de la UDEM, que Mauricio comenzó a motivarse y comenzaría a

darse cuenta que puede brillar en el mundo del inglés, las matemáticas y la física. Sin embargo, no todo fue felicidad y gloria, ya que tendría dificultades en sus clases de francés, a pesar de que él mismo decidió ponerse ese reto, donde se daría cuenta que estudiar una lengua sin encontrar el interés y sin practicarla, resultaría en una tediosa labor sin resultados prácticos.

Por otro lado, en el ámbito social, Mauricio siempre fue un chico introvertido y que disfruta más de su tiempo a solas, donde siente que puede relajarse de los prejuicios sociales. Él comenzó a tener dificultades para formar nuevas amistades durante la primaria, cuando las interacciones entre sus compañeros comenzaron a ser más agresivas y competitivas. A partir de esos momentos, Mauricio prefirió que sus compañeros primero muestren interés o benevolencia hacia él, para que de esa forma, él confirme que se trata de una persona de buena fe y que vale la pena poner su confianza en ellos. Dicho esto, conforme Mauricio maduró durante su adultez temprana, aprendería a desarrollar una personalidad adaptable a los demás, siempre buscando cooperar y siempre buscando evitar conflictos innecesarios. Sin embargo, esto le robaría de la oportunidad de desarrollar una personalidad más sólida, única y definida.

Eventualmente, Mauricio formaría un interés por la ciencia, en particular por la biología y la medicina, donde se vería inspirado por la serie de televisión "House", la cual lo captivó por ser intelectual y emocionalmente estimulante, además de su estética de prestigio y profesionalismo. No fue mucho tiempo después, que Mauricio decidiría tomar la rama profesional de la medicina, donde la UDEM ofrece un programa de integración previo a terminar la

preparatoria. Finalmente, se sentiría motivado para elegir de forma definitiva a la medicina para su carrera, sin embargo, uno de sus primos, quien ya se encontraba estudiando la carrera de medicina en la Facultad de Medicina de la UANL, lo guiaría a que se inscribiera a esa institución.

Una vez dentro de la Facultad de Medicina de la UANL, Mauricio se dedicaría día y noche a estudiar embriología, bioquímica y anatomía, que lo captivaron por sus grados de complejidad, dificultad y profundidad; donde pasaría incontables horas en la biblioteca de la facultad, las que muchas veces parecerían interminables. Sin embargo, la clase o rama de la histología le sería particularmente retadora, ya que inicialmente, la encontraría muy abstracta y su maestro amenazante no le sería de ayuda.

Mauricio seguiría luchando a lo largo de su carrera de medicina, hasta enfrentarse con la clase o rama de mayor dificultad para él, la farmacología. La farmacología le resultaría en un concurso de memoria, donde tendría que ingeniárselas para establecer la mayor cantidad de conexiones en sus neuronas entre los nombres de los medicamentos, los grupos de medicamentos, la posología, las indicaciones, las contraindicaciones, las interacciones y los efectos adversos. Un reto que eventualmente superaría con esfuerzo y dedicación.

Durante sus prácticas clínicas de pregrado, Mauricio aprendería a trabajar en equipo, formando un compromiso con sus colegas y con los pacientes. Además, es aquí donde le surgiría el interés por la rama de la medicina interna, donde le agradaría la combinación de la fisiopatología con la gran diversidad de órganos y sistemas que esta cubre.

Llegando al final de su carrera, Mauricio aún no se decidía en qué rama especializarse, sin embargo, él sabía que se veía en su mente más feliz y familiarizado en un ambiente de laboratorio. Sin embargo, primero decidió hacer su servicio social en el departamento de histología de la Facultad de Medicina de la UANL, donde calificaría manuales de trabajo, daría clases de histología presenciales a estudiantes de pregrado y acudiría a sesiones intradepartamentales. Es allí donde Mauricio estudiaría arduamente las bases de la histología, para así por lo menos estar bien capacitado para dar clases y evaluar el trabajo de los alumnos de pregrado. Finalmente, Mauricio lograría superar sus miedos y dificultades que conllevaban la oratoria de sus clases de pregrado, de tal forma que terminaría su servicio social con un verdadero sentimiento de logro y superación.

Gracias a su experiencia en el departamento de histología durante su servicio social, fue que Mauricio decidiría encaminarse hacia la especialidad de anatomía patológica. Por lo cual, primero decidió dedicar un año completo a estudiar diligentemente para el examen ENARM, el cual, afortunadamente aprobaría en su primera oportunidad. Posteriormente, tendría la fortuna de ser aceptado en el Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología de su propio hospital universitario, el Hospital Dr. José Eleuterio González. Más allá del programa de la especialidad, Mauricio no sabía qué esperarse, ya que él en realidad, él no tenía conocimientos previos de ese servicio, sin embargo, tuvo muy buenas primeras impresiones debido a las instalaciones amplias, el equipo de maestros, equipo de residentes, equipo técnico y a las distintas herramientas a su disposición.

Mauricio enfrentaría un sin número de retos a lo largo de su especialidad, siempre buscando aprender de su trabajo diario, de sus maestros, de sus clases y de sus sesiones, cada día superándose a sí mismo.