



# Expresión Inmunohistoquímica del Antígeno Ki-67 en Relación con el Grado Histológico y Riesgo de Recidivas en Meningiomas Intracraneanos

Alipio A. Hernández F.<sup>1</sup> .

Ghislaine Céspedes C<sup>2</sup> .

Ernesto Trejo<sup>3</sup> .

<sup>1</sup>Médico Anatomopatólogo Servicio de Anatomía Patológica “Dr. Hans Doehnert”. Hospital Central Universitario “Dr. Antonio María Pineda”. Decanato de Ciencias de la Salud. Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” (UCLA). Barquisimeto, Venezuela. alipiohf@gmail.com

<sup>2</sup>Médico Anatomopatólogo Sección de Neuropatología del Instituto Anatomopatológico “Dr. José A. O’Daly”. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela (UCV). Caracas, Venezuela.

<sup>3</sup>Médico Veterinario Cátedra de Patología General y Fisiopatología. Instituto de Medicina Experimental – Universidad Central de Venezuela.

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 21 de Mayo del 2017 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

## RESUMEN

Los meningiomas son neoplasias primarias frecuentes del sistema nervioso central, usualmente benignos y susceptibles de curación mediante cirugía. El grado histológico de la OMS y la extensión de la resección quirúrgica inicial son factores pronósticos determinantes en estos tumores. Sin embargo, una tasa de recidiva cercana al 20% en meningiomas benignos totalmente resecados plantea la necesidad de considerar nuevos factores pronósticos. Un total de 93 casos fueron seleccionados para el estudio inmunohistoquímico del antígeno Ki-67 (marcador de proliferación celular) en relación con el grado histológico y riesgo de recidivas en los meningiomas. El índice de marcaje inmunohistoquímico (IM) del antígeno Ki-67 se incrementó con la progresión del grado histológico (promedios de 1,61% para el grado I, 4,63% para el II y 7,25% para el III) y fue significativamente superior en meningiomas recidivantes (4,29% vs 1,48% de los no recidivantes). El punto de corte de 2% resultó estadísticamente útil para separar a los meningiomas benignos (grado I) de los no benignos (grados II-III) y a los tumores recidivantes de los no recidivantes. De esta manera, un IM del antígeno Ki-67 igual o mayor de 2% puede indicar la posibilidad de un grado más alto en casos histológicamente ambiguos o un riesgo mayor para desarrollar recidivas en meningiomas de un grado histológico en particular (especialmente en tumores benignos).

**PALABRAS CLAVE:** Meningioma, inmunohistoquímica, antígeno Ki-67

## SUMMARY

Meningiomas are frequent primary neoplasms of the central nervous system, usually benign and susceptible to healing through surgery. The histological grade of the WHO and the extension of the initial surgical resection are determining prognostic indicators in these tumors. Nevertheless, a rate of recurrence close to 20% in benign meningiomas with gross total resection raises the need of considering new prognostic indicators. A total of 93 cases were selected for the immunohistochemical study of the Ki-67 antigen (a marker of cell proliferation) in relation to the histological grade and risk of recurrences in meningiomas. The immunohistochemical labeling index (LI) of Ki-67 antigen was incremented with the progression of the histological grade (averages of 1,61% per grade I, 4,63% per grade II and 7,25% per grade III) and was significantly higher for recurrent meningiomas (4,29% vs. 1,48% for the non recurrent). The cut off of 2% became statistically useful to separate the benign meningiomas (grade I) from the non benign (grades II - III) and the recurrent tumors from the non recurrent. Thus, an LI of Ki-67 antigen equal or higher to 2% may indicate the possibility of a higher grade in histologically ambiguous cases or a higher risk for developing recurrence in meningiomas of a particular histological grade (specially in benign tumors).

**KEY WORDS:** Meningioma, immunohistochemistry, Ki-67 Antigen

## EXPRESIÓN INMUNOHISTOQUÍMICA DEL ANTÍGENO KI-67 EN RELACIÓN CON EL GRADO HISTOLÓGICO Y RIESGO DE RECIDIVAS EN MENINGIOMAS INTRACRANEANOS

## INTRODUCCIÓN

Los meningiomas representan entre el 13 al 26% de los tumores intracraneanos<sup>(1)</sup>. Se manifiestan frecuentemente en adultos de edad media y avanzada, con una incidencia mayor

en mujeres<sup>(2-6)</sup>. Aunque más del 80% de los casos corresponden a tumores benignos susceptibles de curación mediante resección quirúrgica completa<sup>(3,4,7)</sup>, algunos meningiomas exhiben características histopatológicas atípicas o malignas y presentan un comportamiento biológico agresivo, dando lugar al desarrollo de recidivas, metástasis extracraneanas y períodos de supervivencia cortos después de la cirugía inicial<sup>(2-8)</sup>.

La predicción del comportamiento biológico de los meningiomas en base a su presentación clínica o apariencia histopatológica sigue siendo controversial. Los factores que han demostrado tener mayor relevancia estadística para predecir el comportamiento de estos tumores tienen que ver con la extensión de la resección quirúrgica macroscópica inicial<sup>(3-5,8)</sup> y el grado histológico de los meningiomas<sup>(4-6,9,10)</sup>. En comparación con las tasas de recidivas a 5 y 10 años de los pacientes con meningiomas totalmente resecados (12 y 25%, respectivamente), aquellos pacientes sometidos a resección quirúrgica parcial suelen mostrar porcentajes de recidivas abiertamente mayores (39 y 61%, respectivamente)<sup>(9)</sup>. Como factor pronóstico independiente, las tasas de recidivas aumentan en la medida en que se incrementa el grado histológico, correspondiendo los valores más elevados a los meningiomas atípicos y malignos<sup>(4,5,11)</sup>. A pesar de lo anterior, sigue llamando la atención que más del 80% de los meningiomas corresponden al grado histológico I de la OMS (meningiomas benignos)<sup>(3-5,12)</sup> y que, dentro de este grupo, las tasas de recidivas alcanzan la cifra de 20% durante períodos de seguimiento de 20 o más años posteriores a la resección quirúrgica total<sup>(13)</sup>.

Durante los últimos años, un número importante de investigaciones se ha generado para intentar descubrir nuevos factores pronósticos en meningiomas, entre los que destacan diferentes marcadores biológicos y moleculares de la progresión tumoral, tales como el índice de proliferación celular<sup>(10,14-28)</sup> y de apoptosis<sup>(29-34)</sup>, la expresión de receptores hormonales<sup>(35-45)</sup>, la expresión de moléculas de adhesión celular<sup>(46)</sup> y de factores de crecimiento<sup>(47-50)</sup>, la angiogénesis<sup>(49,51,52)</sup> y las alteraciones genéticas<sup>(17,53-58)</sup>.

El estudio de la proliferación celular en meningiomas es importante porque permite identificar aquellos tumores con un potencial elevado para desarrollar recidivas, particularmente en el caso de meningiomas que no son obviamente atípicos o anaplásicos por criterios histopatológicos<sup>(21,22,25)</sup>. El índice de marcaje inmunohistoquímico (IM) para el antígeno Ki-67, que constituye una proteína nuclear presente sólo durante las fases activas del ciclo celular<sup>(17,28,59)</sup>, representa uno de los métodos más utilizados para evaluar el grado de proliferación celular de los meningiomas<sup>(5,21,25,28)</sup>. En general, el IM del antígeno Ki-67 se incrementa en la medida en que aumenta el grado histológico de los meningiomas<sup>(10,20,28)</sup> y puede predecir el riesgo para desarrollar recidivas en estos tumores, dado su mayor valor promedio en meningiomas recidivantes (3,1 a 14,7%) en comparación con aquellos meningiomas que no recidivan (0,3 a 4,7%), independientemente del grado histológico y de la extensión de la resección quirúrgica inicial<sup>(10,17,20-22,28,31,60-65)</sup>.

El presente estudio fue diseñado con la finalidad de establecer la utilidad que tiene el

marcaje inmunohistoquímicos del antígeno Ki-67 para categorizar adecuadamente el grado histológico de los meningiomas y detectar aquellos tumores con un riesgo incrementado para desarrollar recidivas.

## POBLACIÓN Y MÉTODOS

Entre los años 1.980 a 2.003, se registraron en la Sección de Neuropatología del Instituto Anatomopatológico “Dr. José A. O’Daly” de la Universidad Central de Venezuela (IAP-UCV) un total de 580 meningiomas pertenecientes a 532 pacientes, de los cuales 455 tumores correspondieron a meningiomas no recidivantes (455 pacientes), 110 a meningiomas recidivantes (67 pacientes) y 15 a meningiomas múltiples (10 pacientes). Todos estos casos fueron revisados clínica e histológicamente antes de la selección de la muestra del estudio.

De las historias clínicas y/o solicitudes de biopsia fueron anotados los datos de identificación de cada paciente, edad para el momento de la primera cirugía, sexo, presentación clínica, localización del tumor, extensión de la resección quirúrgica macroscópica inicial (total/parcial), número e intervalo de recidivas, tiempo de seguimiento clínico post-operatorio y antecedentes personales y/o familiares de importancia. La supervivencia libre de recidivas fue definida como el intervalo de tiempo (en meses) transcurrido desde la fecha del tratamiento quirúrgico inicial hasta la fecha del último control médico para el caso de los meningiomas no recidivantes o hasta la fecha de la subsecuente intervención quirúrgica en caso de meningiomas recidivantes. Cuando presentes, se anotaron también el intervalo de aparición de metástasis y la fecha de muerte del paciente, registrando además la causa del fallecimiento.

Los bloques de parafina con tejido tumoral incluido y las láminas histológicas correspondientes, teñidas con hematoxilina y eosina y demás coloraciones especiales, tanto del tumor inicial como de las recidivas, fueron revisadas histológicamente. Se anotaron en cada caso el tipo histológico predominante del tumor (según el esquema de clasificación de la **OMS**), el índice mitótico (recuento de mitosis en 10 campos microscópicos consecutivos de 400x) y la presencia/ausencia de hipercelularidad, células pequeñas, crecimiento en láminas, macronucléolos, necrosis, pérdida de diferenciación meningotelial e invasión al parénquima nervioso y/o de otras estructuras adyacentes al tumor.

Los meningiomas fueron clasificados en tres grados histológicos (I, II y III) siguiendo el esquema de la **OMS** <sup>(7)</sup> y las recomendaciones de *Perry y col.* <sup>(4)</sup>. Se catalogaron como meningiomas benignos (grado I) los subtipos meningotelial, fibroblástico, transicional, psammomatoso, angiomiato, microquístico, secretor, linfoplasmocitario y metaplásico que no presentaron características histopatológicas de atipicidad o malignidad <sup>(7)</sup>. Fueron considerados meningiomas atípicos (grado II) aquellos tumores que cumplieron con cualquiera de los siguientes criterios histopatológicos: 1) actividad mitótica <sup>3</sup> 4 mitosis en 10 campos microscópicos de 400x; 2) presencia de al menos tres de las siguientes características: incremento de celularidad, células pequeñas con aumento de relación núcleo/citoplasma, nucleólos prominentes y crecimiento en láminas; o, 3) invasión del parénquima nervioso <sup>(4,7)</sup>.

Como meningiomas malignos o anaplásicos (grado III) fueron clasificados aquellos tumores que llenaron cualquiera de los siguientes criterios histopatológicos: 1) elevada actividad mitótica mm de espesor representativos de cada tumor fueron montados en láminas silanizadas, desparafinados en xilol y rehidratados con pasos sucesivos de alcoholes de grado decreciente hasta agua desionizada. La actividad de peroxidasa endógena y las uniones electrostáticas inespecíficas fueron bloqueadas respectivamente con solución de peróxido de hidrógeno al 3% en metanol y un agente bloqueante de proteínas (*Immunon Shandon*, *Pittsburg, EEUU*). La recuperación antigénica se efectuó por calor con una vaporera de marca comercial durante 30 minutos, para lo cual se dejaron las láminas inmersas en solución recuperadora blanco de *Dako* de pH 6.1. Posterior al lavado con solución de tris buffer salino con tween 20 (**TBST**), las láminas fueron colocadas en contenedores adecuados y los siguientes pasos realizados en el aparato automático *Dako AutoStainer*. El anticuerpo primario fue incubado sobre las secciones histológicas a temperatura ambiente durante una hora, seguido de lavado con **TBST**. Utilizando el sistema de detección y amplificación EnVision (*Dako, Carpintería, EEUU*), se aplicó un anticuerpo secundario anti-IgG de ratón unido a un polímero de dextrano marcado con peroxidasa de rábano blanco, con tiempo de incubación de 20 minutos a temperatura ambiente, seguido de lavado de las láminas histológicas con **TBST**. Posteriormente, se aplicó una mezcla conteniendo peróxido de hidrógeno como substrato y el cromógeno 3,3'-diaminobencidina (*sistema DynaChrome*; *ThermoShandon, Pittsburg, EEUU*) durante 10 minutos, seguido de lavado con agua corriente. Finalmente, los preparados histológicos fueron contrastados con hematoxilina de Mayer, deshidratados y cubiertos con laminillas. Se utilizó como control positivo del método inmunohistoquímico un adenocarcinoma ductal invasor de mama con reactividad conocida para el antígeno Ki-67, en tanto que la omisión del anticuerpo primario sobre un corte histológico seriado de este mismo tumor generó el respectivo control negativo.

Sólo la inmunotinción nuclear fue considerada positiva para el antígeno Ki-67, independientemente del grado de intensidad de la misma. El índice de marcaje inmunohistoquímico (**IM**) fue expresado como el porcentaje de células neoplásicas inmunopositivas sobre un total no menor de 3.000 células tumorales contabilizadas en campos microscópicos consecutivos de 400x, iniciando el recuento en aquellas áreas del tumor con mayor densidad de células inmunoreactivas. El cálculo del **IM** sobre 3.000 células tumorales fue realizado con el objeto de evitar la sobre-estimación de resultados ocasionada por la heterogeneidad tumoral. Para el recuento celular se digitalizaron los campos microscópicos necesarios dentro de cada tumor con el capturador de imágenes Image-Pro<sup>â</sup> Plus version 3.0 for Windows<sup>TM</sup> (*Media Cybernetics, L.P; Silver Spring, Maryland, EEUU*). Una vez obtenidos los **IM** del antígeno Ki-67 en cada uno de los casos seleccionados, se procedieron a estimar sus valores promedios y rangos para los grupos de meningiomas recidivantes y no recidivantes, así como para los diferentes grados histológicos.

Todos los datos obtenidos de la investigación fueron tabulados y analizados en base a los objetivos planteados. Las diferencias observadas en relación con los valores promedios y rangos de los **IM** del antígeno Ki-67 entre meningiomas recidivantes y no recidivantes y entre los diferentes grados histológicos fueron evaluadas mediante las pruebas estadísticas

## RESULTADOS

El estudio inmunohistoquímico del antígeno Ki-67 fue realizado sobre un total de 93 casos. El promedio de edad global para la muestra fue de  $48,45 \pm 12,92$  años (rango de 20 a 85 años) y predominaron los pacientes del sexo femenino (61,29% de la muestra, con una relación femenino/masculino de 1,58:1). El tiempo promedio de seguimiento clínico post-operatorio para los pacientes con meningiomas no recidivantes fue de  $119,13 \pm 45,16$  meses (rango de 60 a 221 meses), en tanto que el intervalo promedio de aparición de la primera recidiva para aquellos con meningiomas recidivantes fue de  $61,35 \pm 84,42$  meses (rango de 5 a 348 meses).

### *IM del Antígeno Ki-67 y Grado Histológico*

El **IM** del antígeno Ki-67 fue estimado en 74 meningiomas de diferentes grados histológicos (41 grado I, 23 grado II y 10 grado III). Los promedios del **IM** del antígeno Ki-67 fueron de 1,66% para los meningiomas grado I, 4,63% para los grado II y 7,25% para los grado III, siendo la diferencia global estadísticamente significativa ( $p<0,0001$ ) (**tabla I** y **figura 1**). La comparación específica de los **IM** del antígeno Ki-67 obtenidos para cada grado histológico demostró significancia estadística entre los grados I y II ( $p=0,0002$ ) y entre I y III ( $p=0,0137$ ), pero no entre los grados II y III ( $p=0,2073$ ) (**tabla I**). Tomados como un grupo, los meningiomas no benignos (grados II-III) mostraron un **IM** promedio del antígeno Ki-67 de 5,43%, cifra ésta significativamente mayor ( $p=0,001$ ) a la observada dentro del grupo de meningiomas benignos grado I (1,66%) (**tabla I**).

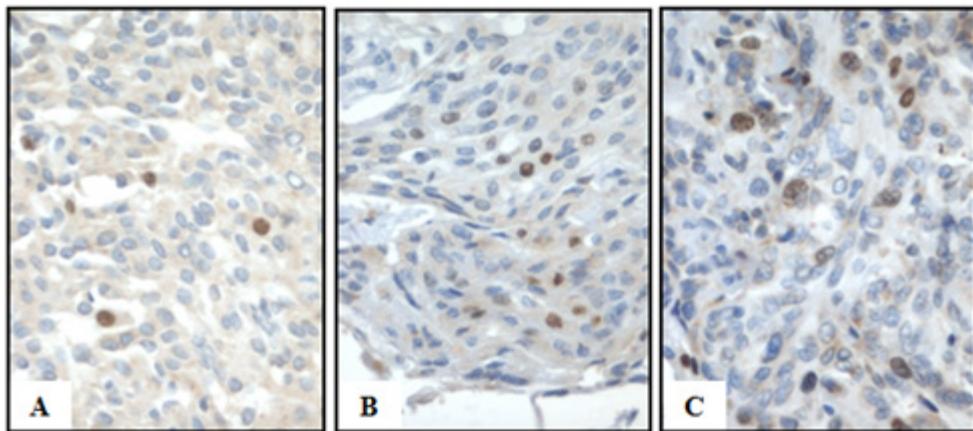
**Tabla I**  
**Comparación del IM del Antígeno Ki-67**  
**entre los Grados Histológicos de los Meningiomas**

	Grados Histológicos			Valor de <i>p</i>
	I (n=41)	II (n=23)	III (n=10)	
Promedio $\pm$ DE del IM de Ki-67 (%) (Rango)	<b>1,66 <math>\pm</math> 2,45</b> (0-14,02)	<b>4,63 <math>\pm</math> 3,42</b> (1,08-12,03)	<b>7,25 <math>\pm</math> 5,78</b> (0,46-17,93)	<b>&lt; 0,0001<sup>a</sup></b> I vs II: 0,0002 <sup>b</sup> I vs III: 0,0137 <sup>b</sup> II vs III: 0,2073 <sup>b</sup>
<b>Comparación de todos los grados</b>				
Promedio $\pm$ DE del IM de Ki-67 (%) (Rango)	<b>1,66 <math>\pm</math> 2,45</b> (0-14,02)	<b>5,43 <math>\pm</math> 4,35</b> (0,46-17,93)		<b>0,0001<sup>b</sup></b>
<b>Comparación de grados I vs II-III</b>				

<sup>a</sup>ANOVA de una vía; <sup>b</sup> *t* test no pareado.

**IM:** índice de marcaje inmunohistoquímico (% de células inmunopositivas sobre un total no menor de 3.000 células neoplásicas).

**FUENTE:** Archivo de Biopsias de la Sección de Neuropatología del IAP-UCV (1980-2003).

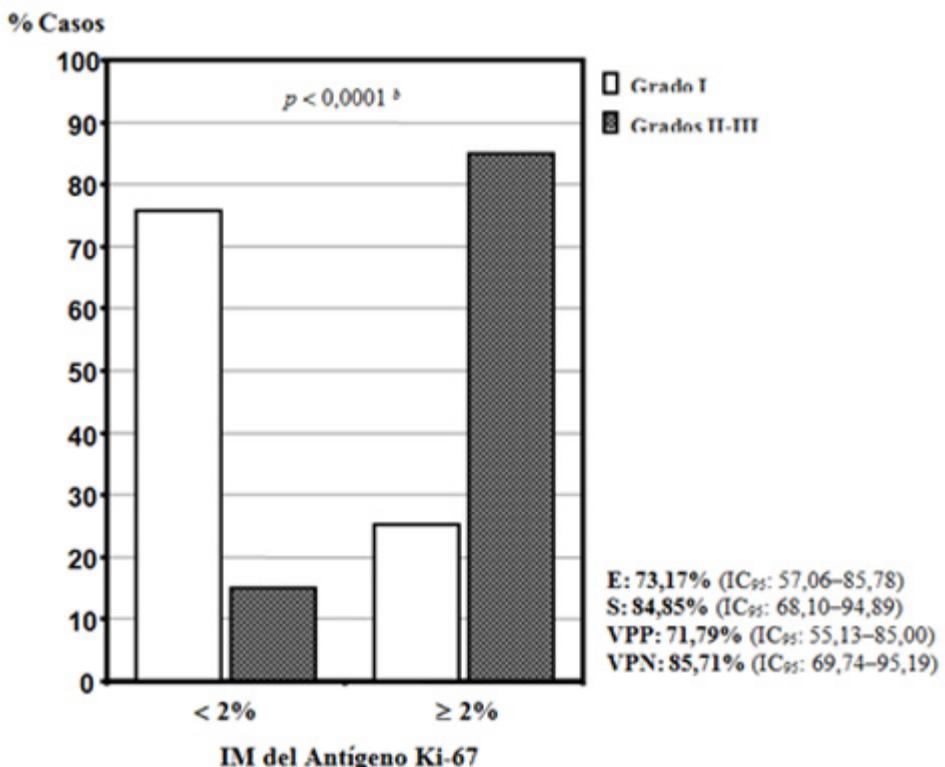


**Figura 1.** Representación comparativa de los índices de marcaje inmunohistoquímico (IM) del antígeno Ki-67 entre los diferentes grados histológicos de los meningiomas. **A)** IM de 1,71% en un meningioma secretor (grado I); **B)** IM de 5,92% en un meningioma atípico (grado II); y, **C)** IM de 10,23% en un meningioma maligno (grado III). (A, B y C: EnVision/DAB, x400).

Con el objeto de discriminar entre meningiomas benignos (grado I) y no benignos (grados II-III), la aplicación de la prueba *TG-ROC* determinó un punto de corte útil del **IM** del antígeno Ki-67 equivalente al 2%. Así, el **IM** del antígeno Ki-67 en meningiomas benignos (grado I) fue < 2% en 31 casos (75,61%) y <sup>3</sup> 2% en 28 (84,85%), siendo la diferencia estadísticamente significativa ( $p<0,0001$ ) (**gráfico 1**). La especificidad y la sensibilidad para este punto de corte fueron de 73,17% y 84,85%, respectivamente, en tanto que los valores predictivos positivo y negativo correspondieron a 71,79% y 85,71%, respectivamente.

Gráfico 1

**Punto de Corte <sup>a</sup> del IM del Antígeno Ki-67 para Discriminar entre Meningiomas Benignos (Grado I) y No Benignos (Grados II-III)**



<sup>a</sup> Establecido por TG-ROC (Two-Graph Receiver Operating Characteristic). <sup>b</sup> Prueba de probabilidad exacta de Fisher.

IM: índice de marcaje inmunohistoquímico (% de células immunopositivas sobre un total no menor de 3.000 células neoplásicas). E: especificidad. S: sensibilidad. VPP: valor predictivo positivo. VPN: valor predictivo negativo.

FUENTE: Archivo de Biopsias de la Sección de Neuropatología del IAP-UCV (1980-2003).

Los meningiomas grado I con IM <sup>3</sup> 2% en 4 (17,39%), en contraste con el grupo de meningiomas recidivantes donde el IM promedio fue < 2% en 9 casos (39,13%) y

## DISCUSIÓN

El estudio de la proliferación celular en meningiomas resulta importante porque permite identificar aquellos tumores con un potencial elevado para desarrollar recidivas, particularmente en el caso de meningiomas que no son obviamente atípicos o anaplásicos por criterios histopatológicos (21,22,25). En general, la proliferación celular se incrementa en la medida en que ocurre la progresión tumoral desde el meningioma benigno al atípico y del atípico al anaplásico (5,20).

El antígeno Ki-67 es una proteína nuclear no histona que se expresa en las células durante las fases activas del ciclo celular (17,28,59). El estudio de la proliferación celular mediante el IM del antígeno Ki-67 (porcentaje de células neoplásicas immunopositivas) ha sido utilizado para intentar predecir el comportamiento biológico de los meningiomas (10,21,25,28). En diferentes

estudios, muchos de los cuales han utilizado el anticuerpo monoclonal **MIB-1**, se ha observado una correlación positiva significativa entre el **IM** del antígeno Ki-67 y el grado histológico de los meningiomas, con valores promedios que oscilan entre 0,7 a 3,2% para los meningiomas benignos, 2,1 a 9,9% para los meningiomas atípicos y 6,0 a 19,5% para los meningiomas anaplásicos (10,17,20,28,31,47,53,64,67,68). En nuestra selección de casos (41 meningiomas benignos, 23 atípicos y 10 malignos), los **IM** del antígeno Ki-67 se ubicaron dentro de los rangos señalados y guardaron relación significativa con el grado histológico de los meningiomas ( $p<0,0001$ ), con promedios equivalentes a 1,66% para los tumores grado I, 4,63% para los grado II y 7,25% para los grado III.

La adopción de un punto de corte específico del **IM** del antígeno Ki-67 puede representar un recurso útil para discriminar los diferentes grados histológicos de los meningiomas. Si bien es cierto que los criterios histopatológicos propuestos por la **OMS** (7) para la clasificación de los meningiomas en tres grados, con base a los estudios conducidos por *Perry y col.* (4,9), han tenido amplia aceptación por su objetividad e impacto pronóstico, algunos autores todavía dudan acerca de la confiabilidad de los mismos, al tomar en cuenta la elevada tasa de recidivas (cercana al 20%) informada para meningiomas benignos totalmente resecados (13). De hecho, se siguen generando publicaciones de investigaciones que evalúan la significancia pronóstica de la clasificación histológica de la **OMS** y aún de otros atributos histopatológicos no tomados en cuenta en dicha clasificación, como por ejemplo la presencia de necrosis tumoral (11,28,55,69) y el pleomorfismo celular (21,55).

En un estudio de 349 meningiomas intracraneanos, *Takahashi y col.* (70) informaron una supervivencia libre de progresión tumoral a 5 años equivalente al 93% para los tumores sin actividad mitótica, de 10% para aquellos con menos de 4 mitosis y de 13% para los tumores con 4 o más mitosis contabilizadas en 10 campos de alto poder. En este mismo estudio (70), los autores también fueron capaces de demostrar que el **IM** del antígeno Ki-67 se incrementa dramáticamente (3 5%) una vez que aparecen las figuras mitóticas en los meningiomas. Si se toma en cuenta que el recuento mitótico es un parámetro crítico dentro de la clasificación histológica de la **OMS** (7) (3 4 mitosis en 10 campos de alto poder resulta diagnóstico para meningiomas atípicos y 3 20 mitosis para meningiomas malignos), cabría preguntarse entonces qué significancia pronóstica pudieran tener en meningiomas histológicamente benignos la ausencia o la presencia de 1, 2 o hasta 3 mitosis. Si a todo lo anterior se suma la problemática que genera para el patólogo la heterogeneidad tumoral y el hecho de que algunas biopsias de meningiomas incluyen sólo una parte limitada del tumor, cobra aún mayor importancia el inmunomarcaje de la proliferación celular para detectar aquellos tumores que pudieran tener un comportamiento biológico más agresivo y, si acaso, para redefinir el grado histológico en casos ambiguos o sujetos de limitaciones de muestreo.

Los puntos de corte del **IM** del antígeno Ki-67 informados para los grados histológicos de los meningiomas varían de un laboratorio a otro, por razones inherentes a variabilidad interobservador en la interpretación de resultados, heterogeneidad tumoral, diferentes métodos de recuento utilizados y variaciones en cuanto a la técnica inmunohistoquímica aplicada y al tipo de anticuerpos empleados (5,7,17,25,59,71). Para separar los meningiomas

benignos (grado I) de los no benignos (grados II-III), *Lanzame y col.* (10) encontraron significancia estadística con un **IM** del antígeno Ki-67 equivalente al 1%, en tanto que *Amatya y col.* (67) y *Devaprasath y Chaco* (72) plantearon cifras limítrofes de 5% y 7%, respectivamente. En nuestro estudio, la comparación de los **IM** del antígeno Ki-67 demostró significancia estadística entre los grados histológicos I y II y entre I y III, pero no entre los grados II y III, siendo la cifra de 2% relevante ( $p<0,0001$ ) para diferenciar a los meningiomas benignos (**IM** < 2% en 73% de los casos) de los no benignos (**IM** <sup>3</sup> 2% en 85% de los casos), con un valor predictivo positivo equivalente a 72% y niveles aceptables de sensibilidad (85%) y especificidad (73%).

Independientemente del grado histológico y de la extensión de la resección quirúrgica inicial, el **IM** del antígeno Ki-67 también puede reflejar el potencial de los meningiomas para desarrollar recidivas, dado su mayor valor promedio en meningiomas recidivantes (3,1 a 14,7%) en comparación con aquellos meningiomas que no recidivan (0,3 a 4,7%) (10,17,20-22,28,31,60-65), siendo otra vez variable entre los diferentes estudios el punto de corte por encima del cual existe un mayor riesgo para desarrollar recidivas, con cifras que oscilan entre 1 a 4,2% (10,47,60,62,73). Al comparar en nuestro estudio 23 meningiomas no recidivantes (con seguimiento clínico mayor de 5 años) vs 23 meningiomas recidivantes, obtuvimos promedios del **IM** para el antígeno Ki-67 de 1,48% para el primer grupo y de 4,29% para el segundo, con una diferencia estadísticamente significativa que se mantuvo incluso al considerar sólo a los meningiomas benignos en ambos grupos y un punto de corte útil de 2% para discriminar entre meningiomas no recidivantes (**IM** < 2% en 83% de los casos) y recidivantes (**IM** <sup>3</sup> 2% en 61% de los casos). El valor predictivo positivo para este punto de corte fue de 78% y la probabilidad de supervivencia libre de recidivas resultó significativamente superior en aquellos meningiomas con un **IM** del antígeno Ki-67 menor del 2%.

Hasta la fecha no existe una cifra universalmente aceptada del **IM** del antígeno Ki-67 que permita detectar de manera confiable meningiomas de un grado histológico en particular o aquellos tumores con elevado riesgo para desarrollar recidivas. La **OMS** recomienda añadir al diagnóstico histopatológico de los meningiomas un comentario adicional en el caso de tumores con **IM** elevados (por ejemplo, > 5 ó 10%) hasta tanto no se llegue a un consenso en la materia (5,7) y algunos autores coinciden en señalar que cada laboratorio debería emprender estudios bien conducidos para establecer sus propios valores de referencia (21). En este sentido, nuestros resultados sugieren que un **IM** del antígeno Ki-67 igual o superior al 2% en un meningioma dado, plantea la posibilidad de asignar un grado mayor en casos histológicamente ambiguos (biopsias pequeñas de tumores que cumplen con algunos, pero no con todos los criterios de atipicidad o malignidad si no pudiera realizarse un muestreo más extensivo del tumor) o de un mayor riesgo para desarrollar recidivas dentro de un mismo grado histológico (especialmente en tumores benignos), todo lo cual implica la necesidad de emprender controles médicos periódicos más rigurosos en tales casos.

## Agradecimientos

A la Coordinación de Investigación de la Facultad de Medicina de la Universidad Central de Venezuela (UCV) y al Instituto Anatomopatológico “Dr. José A. O’Daly” de la UCV (IAP-UCV),

por el financiamiento parcial aportado para la investigación.

Al Dr. José Miguel Avilán Rovira, Profesor Titular en la Cátedra de Salud Pública de la UCV y Especialista en Epidemiología y Bioestadística, por su aporte metodológico.

Al personal de las Secciones de Neuropatología, Inmunohistoquímica y Microscopía Electrónica, Secretaría General y Biblioteca del IAP-UCV, especialmente a Dalila Peñaloza, Joyce Santiago, Belinda Albarrán y Liliana Rodríguez, por su valiosa colaboración en la realización de cada una de las etapas del proyecto de investigación.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Lantos PL, VanderBerg SR, Kleihues P. Tumours of the nervous system. In: Graham DI, Lantos PL, editors. *Greenfield's neuropathology*. London: Arnold, 1996: 583-879.
2. Kepes JJ. Meningiomas. Biology, pathology, and differential diagnosis. New York: Masson Monographs in Diagnostic Pathology, 1982.
3. Burger PC, Scheithauer BW. Tumors of the central nervous system. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology (AFIP), 1994.
4. Perry A, Scheithauer BW, Stafford SL, Lohse CM, Wollan PC. "Malignancy" in meningiomas. A clinicopathologic study of 116 patients, with grading implications. *Cancer* 1999; 85: 2046-2056.
5. Louis DN, Scheithauer BW, Budka H, von Deimling A, Kepes JJ. Meningiomas. In: Kleihues P, Cavenee WK, editors. *Pathology and genetics of tumors of the nervous system*. World Health Organization Classification of Tumors. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC), 2000: 175-184.
6. Burger PC, Scheithauer BW, Vogel FS. Surgical pathology of the nervous system and its coverings. Fourth edition. New York: Churchill Livingstone, 2002: 49-71.
7. Kleihues P, Louis DN, Scheithauer BW, Rorke LB, Reifenberger G, Burger PC, et al. The WHO classification of tumors of the nervous system. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002; 61: 215-225.
8. Palma L, Celli P, Franco C, Cervoni L, Cantore G. Long-term prognosis for atypical and malignant meningiomas: a study of 71 surgical cases. *J Neurosurg* 1997; 793-800.
9. Perry A, Stafford SL, Scheithauer BW, Suman VJ, Lohse CM. Meningioma grading: an analysis of histologic parameters. *Am J Surg Pathol* 1997; 21: 1455-1465.
10. Lanzafame S, Torrisi A, Barbagallo G, Emmanuel C, Alberio N, Albanese V. Correlation between histological grade, MIB-1, p53, and recurrence in 69 completely resected primary intracranial meningiomas with a 6 year mean follow-up. *Pathol Res Pract* 2000; 196: 483-488.
11. Niedermayer I, Kolles H, Zang KD, Feiden W. Characterization of intermediate type (WHO "atypical") meningiomas. *Clin Neuropathol* 1996; 15: 330-336.
12. Otamendi VA. Meningiomas: factores pronósticos [trabajo especial de investigación para optar al título de especialista en anatomía patológica]. Caracas: Universidad Central de Venezuela, 1987.
13. Jaaskelainen J. Seemingly complete removal of histologically benign intracranial meningioma: late recurrence rate and factors predicting recurrence in 657 patients. A

- multivariate analysis. *Surg Neurol* 1986; 26: 461-469.
- 14. Arumi M, Alameda F, Galit E, Serrano S. Value of AgNORS in predicting behaviour of meningioma. *Electron J Pathol Histol* 1996; 2: 21-27.
  - 15. Demirtas E, Yilmaz F, Ovul I, Oner K, Laerum OD. Recurrence of meningiomas versus proliferating cell nuclear antigen (PCNA) positivity and AgNOR counting. *Acta Neurochir* 1996; 138: 1456-1463.
  - 16. De Stefano V, Salvatore G, Monticelli A, Riccio P, Cappabianca P, Bucciero A. Prognostic significance of nucleolar organizer regions in meningiomas. *J Neurosurg Sci* 1996; 40: 89-92.
  - 17. Striepecke E, Handt S, Weis J, Koch A, Cremerius U, Reineke T, et al. Correlation of histology, cytogenetics and proliferation fraction (Ki-67 and PCNA) quantitated by image analysis in meningiomas. *Path Res Pract* 1996; 192: 816-824.
  - 18. Madsen C, Schroder HD. Ki-67 immunoreactivity in meningiomas-determination of the proliferative potential of meningiomas using the monoclonal antibody Ki-67. *Clin Neuropathol* 1997; 16: 137-142.
  - 19. Moller ML, Braendstrup O. No prediction of recurrence of meningiomas by PCNA and Ki-67 immunohistochemistry. *J Neurooncol* 1997; 34: 241-246.
  - 20. Abramovich CM, Prayson RA. MIB-1 labeling indices in benign, aggressive, and malignant meningiomas: a study of 90 tumors. *Hum Pathol* 1998; 29: 1420-1427.
  - 21. Abramovich CM, Prayson RA. Histopathologic features and MIB-1 labeling indices in recurrent and nonrecurrent meningiomas. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123: 793-800.
  - 22. Nakaguchi H, Fujimaki T, Matsuno A, Matsuura R, Asai A, Suzuki I, et al. Postoperative residual tumor growth of meningioma can be predicted by MIB-1 immunohistochemistry. *Cancer* 1999; 85: 2249-2254.
  - 23. Choong HK, Jin HC, Koang HB, Jae MK, Suck JO. Expression of the proliferating cell nuclear antigen and clinicopathological features in intracranial meningiomas. *J Clin Neurosci* 2001; 8 Suppl 1: 44-48.
  - 24. Kim CH, Cheong JH, Bak KH, Kim JM, Oh SJ. Expression of the proliferating cell nuclear antigen and clinicopathological features in intracranial meningiomas. *J Clin Neurosci* 2001; 8 Suppl 1: 44-48.
  - 25. Nakasu S, Hou Li D, Okabe H, Nakajima M, Matsuda M. Significance of MIB-1 staining indices in meningiomas: comparison of two counting methods. *Am J Surg Pathol* 2001; 25: 472-478.
  - 26. Sandberg DI, Edgar MA, Resh L, Rutka JT, Becker LE, Souweidane MM, et al. MIB-1 staining index of pediatric meningiomas. *Neurosurgery* 2001; 48: 590-595.
  - 27. Torp SH, Lindboe CF, Granli US, Moen TM, Nordtomme T. Comparative investigation of proliferation markers and their prognostic relevance in human meningiomas. *Clin Neuropathol* 2001; 20: 190-195.
  - 28. Ho DMT, Hsu CY, Ting LT, Chiang H. Histopathology and MIB-1 labeling index predicted recurrence of meningiomas. A proposal of diagnostic criteria for patients with atypical meningioma. *Cancer* 2002; 94: 1538-1547.
  - 29. Maier H, Wanschitz J, Sedivy R, Rossler K, Ofner D, Budka H. Proliferation and DNA fragmentation in meningiomas subtypes. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1997; 23: 496-506.
  - 30. Ng H-K, Chen L. Apoptosis is associated with atypical or malignant change in

- meningiomas. An *in situ* labelling and immunohistochemical study. *Histopathology* 1998; 33: 64-70.
31. Abramovich CM, Prayson RA. Apoptotic activity and bcl-2 immunoreactivity in meningiomas. *Am J Clin Pathol* 2000; 114: 84-92.
  32. Konstantinidou A, Korkolopoulou P, Patsouris E, Maher H, Hranioti S, Kotsiakis X, et al. Apoptosis detected with monoclonal antibody to single-stranded DNA is a predictor of recurrence in intracranial meningiomas. *J Neurooncol* 2001; 55: 1-9.
  33. Weisberg S, Ashkenazi E, Israel Z, Attia M, Shoshan Y, Umansky F, et al. Anaplastic and atypical meningiomas express high levels of Fas and undergo apoptosis in response to Fas ligation. *Am J Pathol* 2001; 159: 1193-1197.
  34. Verheijen FM, Donker GH, Viera CS, Sprong M, Jacobs HM, Blaauw G, et al. Progesterone receptor, bcl-2 and bax expression in meningiomas. *Neurooncol* 2002; 56: 35-41.
  35. Speirs V, Boyle-Walsh E, Fraser WD. Constitutive co-expression of estrogen and progesterone receptor mRNA in human meningiomas by RT-PCR and response of in vitro cell cultures to steroid hormones. *Int J Cancer* 1997; 72: 714-719.
  36. Tonn JC, Ott MM, Bouterfa H, Kerkau S, Kapp M, Müller-Hermelink HK, et al. Inverse correlation of cell proliferation and expression of progesterone receptors in tumor spheroids and monolayer cultures of human meningiomas. *Neurosurgery* 1997; 41: 1152-1159.
  37. Durmaz R, Deliorman S, Isiksoy S, Uyar R, Tel E. Luteinizing hormone releasing hormone increases proliferation of meningioma cells in vitro. *Arch Physiol Biochem* 1999; 107: 286-291.
  38. Blankenstein MA, Verheijen FM, Jacobs JM, Donker TH, van Duijnhoven WF, Thijssen JHH. Occurrence, regulation, and significance of progesterone receptors in human meningioma. *Steroids* 2000; 65: 795-800.
  39. Perry A, Cai DX, Scheithauer BW, Swanson PE, Lohse CM, Newsham IF, et al. Merlin, DAL-1, and progesterone receptor expression in clinicopathologic subsets of meningioma: a correlative immunohistochemical study of 175 cases. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000; 59: 872-879.
  40. Schulz S, Pauli SU, Schulz S, Handel M, Dietzmann K, Firsching R, et al. Immunohistochemical determination of five somatostatin receptors in meningioma reveals frequent overexpression of somatostatin receptor subtype sst(2A). *Clin Cancer Res* 2000; 6: 1865-1874.
  41. Chen J, Chen G. Expression of androgen receptor in meningiomas. *J Tongji Med Univ* 2001; 21: 140-142.
  42. Verheijen FM, Sprong M, Jacobs HM, Donker GH, Amelink GJ, Thijssen JHH, et al. Progesterone receptor isoform expression in human meningiomas. *Eur J Cancer* 2001; 37: 1488-1495.
  43. Gursan N, Gundogdu C, Albayrak A, Kabalar ME. Immunohistochemical detection of progesterone receptors and the correlation with Ki-67 labeling indices in paraffin-embedded sections of meningiomas. *Int J Neurosci* 2002; 112: 463-470.
  44. Strik HM, Strobelt I, Pietsch-Breitfeld B, Iglesias-Rozas JR, Will B, Meyermann R. The impact of progesterone receptor expression on relapse in the long-term clinical course of 93 benign meningiomas. *In Vivo* 2002; 16: 265-270.
  45. Taddei GL, Caldarella A, Raspollini MR, Taddei A, Buccoliero AM. Estrogen and

- progesterone receptors in meningiomas: immunohistochemical (Mib-1, p53) and clinicomorphological correlations. *Pathologica* 2002; 94: 10-15.
46. Strojnik T, Zidanik B, Kos J, Lah TT, Kaye AH, Piepmeier JM. Cathepsins B and L are markers for clinically invasive types of meningiomas. *Neurosurgery* 2001; 48: 598-605.
  47. Hsu DW, Efird JT, Hedley-Whyte ET. MIB-1 (Ki-67) index and transforming growth factor-alpha (TGF alpha) immunoreactivity are significant prognostic predictors for meningiomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1998; 24: 441-452.
  48. Halper J, Jung C, Perry A, Suliman H, Hill MP, Scheithauer B. Expression of TGF alpha in meningiomas. *J Neuro Oncol* 1999; 45: 127-134.
  49. Lamszus K, Lengler U, Schmidt NO, Stavrou D, Ergun S, Westphal M, et al. Vascular endothelial growth factor, hepatocyte growth factor/scatter factor, basic fibroblast growth factor, and placenta growth factor in human meningiomas and their relation to angiogenesis and malignancy. *Neurosurgery* 2000; 46: 938-948.
  50. Yang SY, Xu GM. Expression of PDGF and its receptor as well as their relationship to proliferating activity and apoptosis of meningiomas in human meningiomas. *J Clin Neurosci* 2001; 8 Suppl 1: 49-53.
  51. Tsai JC, Hsiao YY, Teng LJ, Shun CT, Chen CT, Goldman CK, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor secretion in human meningioma cells. *J Formos Med Assoc* 1999; 98: 111-117.
  52. Shono T, Inamura T, Torisu M, Suzuki SO, Fukui M. Vascular endothelial growth factor and malignant transformation of a meningioma: case report. *Neurol Res* 2000; 22: 189-193.
  53. Debiec-Rychter M, Biernat W, Limon J, Kordek R, Izycka E, Borowska-Lehman J, et al. Cytogenetic and proliferative potentials in meningiomas. *Pol J Pathol* 1999; 50: 243-248.
  54. Lamszus K, Kluwe L, Matschke J, Meissner H, Laas R, Westphal M. Allelic losses at 1p, 9q, 10q, 14q, and 22q in the progression of aggressive meningiomas and undifferentiated meningeal sarcomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1999; 110: 103-110.
  55. Cerdá NM, Lopez GC, Perez BM, Barcia SJL, Llombart BA. Histopathological and cytogenetic findings in benign, atypical and anaplastic human meningiomas: a study of 60 tumors. *Clin Neuropathol* 2000; 19: 259-267.
  56. Gutmann DH, Donahoe J, Perry A, Lemke N, Gorse K, Kittiniyom K, et al. Loss of DAL-1, a protein 4.1-related tumor suppressor, is an important early event in the pathogenesis of meningiomas. *Hum Mol Genet* 2000; 9: 1495-1500.
  57. Joachim T, Ram Z, Rappaport ZH, Simon M, Schramm J, Wiestler OD, et al. Comparative analysis of the NF2, TP53, PTEN, KRAS, NRAS and HRAS genes in sporadic and radiation-induced human meningiomas. *Int J Cancer* 2001; 94: 218-221.
  58. Zang KD. Meningioma: a cytogenetic model of a complex benign human tumor, including data on 394 karyotyped cases. *Cytogenet Cell Genet* 2001; 93: 207-220.
  59. Morrison CD, Prayson RA. Immunohistochemistry in the diagnosis of neoplasms of the central nervous system. *Sem Diagn Pathol* 2000; 17: 204-215.
  60. Matsuno A, Fujimaki T, Sasaki T, Nagashima T, Ide T, Asai A, et al. Clinical and histopathological analysis of proliferative potentials of recurrent and non-recurrent meningiomas. *Acta Neuropathol (Berl)* 1996; 91: 504-510.
  61. Miyagami M, Kanou T, Nakamura S. P53 protein expression and proliferative potential in non-recurrent and recurrent meningiomas [Article in Japanese]. *No To Shinkei* 1996; 48:

62. Takeuchi H, Kubota T, Kabuto M, Kitai R, Nozaki J, Yamashita J. Prediction of recurrence in histologically benign meningiomas: proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 immunohistochemical study. *Surg Neurol* 1997; 48: 501-506.
63. Kakinuma K, Tanaka R, Onda K, Takahashi H. Proliferative potential of recurrent intracranial meningiomas as evaluated by labelling indices of BUdR and Ki-67, and tumour doubling time. *Acta Neurochir (Wien)* 1998; 140: 26-31.
64. Karamitopoulou E, Perentes E, Tolnay M, Probst A. Prognostic significance of MIB-1, p53, and bcl-2 immunoreactivity in meningiomas. *Hum Pathol* 1998; 29: 140-145.
65. Hakin-Smith V, Battersby RD, Maltby EL, Timperley WR, Royds JA. Elevated p53 expression in benign meningiomas protects against recurrence and may be indicative of senescence. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2001; 27: 40-49.
66. Greiner M. Two-graph receiver operating characteristic (TG-ROC): a Microsoft-EXCEL template for the selection of cut-off values in diagnostic test. *J Immunol Meth* 1995; 185: 145-146.
67. Amatya VJ, Takeshima Y, Sugiyama K, Kurisu K, Nishisaka T, Fukuhara T, et al. Immunohistochemical study of Ki-67 (MIB-1), p53 protein, p21<sup>WAF1</sup>, and p27<sup>KIP1</sup> expression in benign, atypical, and anaplastic meningiomas. *Hum Pathol* 2001; 32: 970-975.
68. Roser F, Samii M, Ostertag H, Bellinzona M. The Ki-67 proliferation antigen in meningiomas. Experience in 600 cases. *Acta Neurochir (Wien)* 2004; 146: 37-44.
69. Kamei Y, Watanabe M, Nakayama T, Kanamaru K, Waga S, Shiraishi T. Prognostic significance of p53 and p21WAF1/CIP1 immunoreactivity and tumor micronecrosis for recurrence of meningiomas. *J Neurooncol* 2000; 46: 205-213.
70. Takahashi JA, Ueba T, Hashimoto N, Nakashima Y, Katsuki N. The combination of mitotic and Ki-67 indices as a useful method for predicting short-term recurrence of meningiomas. *Surg Neurol* 2004; 61: 149-55.
71. Nakasu S, Nakajima M, Handa J. The difference of MIB-1 staining indices in meningiomas by a counting method. *Jpn J Neurosurg* 1998; 7: 279-283.
72. Devaprasath A, Chacko G. Diagnostic validity of the Ki-67 labeling index using the MIB-1 monoclonal antibody in the grading of meningiomas. *Neurol India* 2003; 51: 336-340.
73. Perry A, Stafford SL, Scheithauer BW, Suman VJ, Lohse CM. The prognostic significance of MIB-1, p53, and DNA flow cytometry in completely resected primary meningiomas. *Cancer* 1998; 82: 2262-2269.