

## Expresión inmunohistoquímica de la proteína p53 en relación con el grado histológico y riesgo de recidivas en meningiomas intracraneanos

Drs. Alipio Hernández\*, Ghislaine Céspedes\*, Ernesto Trejo\*\*

### RESUMEN

Los meningiomas son neoplasias primarias frecuentes del sistema nervioso central, usualmente benignas y susceptibles de curación mediante cirugía. El grado histológico 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 reseccionados plantea la necesidad de considerar nuevos factores pronósticos. Un total de 93 casos fueron seleccionados para el estudio inmunohistoquímico de la proteína p53 en relación con el grado histológico y riesgo de recidivas en los meningiomas. El índice de marcaje inmunohistoquímico de la proteína p53 se incrementó con la progresión del grado histológico (promedios de 37,15 % para el grado I, 44,49 % para el II y 57,81 % para el III) y fue significativamente superior en meningiomas recidivantes (46,19 % vs 32,29 % de los no recidivantes). El punto de corte de 40 % 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 índice de marcaje de la proteína p53 igual o mayor de 40 % 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. Proteína p53.

### SUMMARY

Meningiomas are frequent primary neoplasms of the central nervous system, usually benign and susceptible to healing through surgery. The histological grade of the World Health Organization and the extension of the initial surgical resection, are determining prognostic factors in these tumors. Nevertheless, a recurrence rate close to 20 % in benign meningiomas completely resected arises the need of considering new prognostic factors. A total of 93 cases were selected for the immunohistochemical study of p53 protein in relation to the histological grade and the risk of recurrences in meningiomas. The immunohistochemical labeling index of p53 protein increased with the progression of the histological grade (means of 37,15 % for grade I, 44,49 % for grade II, and 57,81 % for grade III) and was significantly superior in recurrent meningiomas (46,19 % vs 32,29 % of non recurrent). The cut off of 40 % became statistically useful to separate the benign meningiomas (grade I) from the non benign (grade II and III) and the recurrent tumors from the non recurrent. In this way, a labelling index of p53 protein equal or superior to 40 % can indicate the possibility of a higher grade in histologically ambiguous cases or a higher risk to develop recurrences in meningiomas of a particular histological grade (specially in benign tumors).

**Key words:** Meningioma. Immunohistochemical. p53 protein.

### INTRODUCCIÓN

Los meningiomas representan entre el 13 % al 26 % de los tumores intracraneanos (1). Se manifiestan frecuentemente en adultos de edad media y avanzada, con una ocurrencia mayor en mujeres (2-6). Aunque más del 80 % de los casos corresponden a tumores

\*Instituto Anatomopatológico "Dr. José A. O'Daly".

\*\*Instituto de Medicina Experimental.

Facultad de Medicina – Universidad Central de Venezuela

benignos susceptibles de curación mediante resección quirúrgica completa (3,4,7), 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 (2-8).

La predicción del comportamiento biológico de los meningiomas en base a su presentación clínica o apariencia histopatológica sigue siendo un tema 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 (3-5,8,9) y el grado histológico de los meningiomas (4-6,9,10). 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) (9). 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 (4,5,11). A pesar de lo anterior, sigue llamando la atención que más del 80 % de los meningiomas corresponden al grado histológico I de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (meningiomas benignos) (3-5,12) 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 (13).

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 (10,14-28) y de apoptosis (29-34), la expresión de receptores hormonales (35-45), la expresión de moléculas de adhesión celular (46) y de factores de crecimiento (47-50), la angiogénesis (49,51,52) y las alteraciones genéticas (17,53-58).

La proteína p53 juega un papel importante en el control del ciclo celular, diferenciación celular, mantenimiento de la estabilidad genómica, envejecimiento celular y apoptosis (59,60). Diferentes estudios han demostrado que la expresión inmunohistoquímica anormal de la proteína p53 en

meningiomas guarda relación con el grado histológico y potencial de recidivas de estos tumores (10,61-65). Se ha observado que el número de meningiomas que expresan proteína p53 se incrementa con la progresión del grado histológico (10,61,62) y que los meningiomas inmunopositivos para la proteína p53 usualmente muestran índices de proliferación celular (antígeno Ki-67) significativamente más elevados en comparación con aquellos meningiomas que no expresan la proteína p53 (45,61-65).

El presente estudio fue diseñado con la finalidad de establecer la utilidad que tiene el marcaje inmunohistoquímico de la proteína p53 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 1980 a 2003, se registraron en la Sección de Neuropatología del Instituto Anatómopatológico "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 posoperatorio 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 x400) y la presencia/ausencia de hiper celularidad, células pequeñas, crecimiento en láminas, macronúcleos, 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 reciente de la OMS (7) y las recomendaciones de Perry y col. (4). Se catalogaron como meningiomas benignos (grado I) los subtipos meningotelial, fibroblástico, transicional, psammomatoso, angiomatoso, microquístico, secretor, linfoplasmocitario y metaplásico que no presentaron características histopatológicas de atipicidad o malignidad (7). Fueron considerados meningiomas atípicos (grado II) aquellos tumores que cumplieron con cualquiera de los siguientes criterios histopatológicos: 1) actividad mitótica  $\geq 4$  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 (4,7). Como meningiomas malignos o anaplásicos (grado III) fueron clasificados aquellos tumores que llenaron cualquiera de los siguientes criterios histopatológicos: 1) elevada actividad mitótica ( $\geq 20$  mitosis en 10 campos microscópicos de 400x); o, 2) citología obviamente maligna con pérdida de la diferenciación meningotelial (tumor parecido a sarcoma, carcinoma o melanoma), bien sea de manera focal o difusa (4,7). En el grado II también fueron incluidos los meningiomas de células claras y cordoide, mientras que el grado III abarcó además a los meningiomas rabdoide y papilar (4,7). Aquellos meningiomas de difícil reconocimiento histopatológico (especialmente tumores de alto grado histológico) fueron diagnosticados y clasificados como tales si presentaban diferenciación meningotelial en una biopsia previa o atributos de meningiomas desde el punto de vista inmuno-histoquímico y/o ultraestructural.

El estudio inmuno-histoquímico de la proteína p53 fue realizado en los casos que cumplieron con los siguientes criterios de inclusión: 1) edad igual o mayor

de 20 años; 2) localización intracraneana del tumor; 3) información clínica completa; 4) resección quirúrgica macroscópica inicial equivalente a 100 % del tumor; 5) tiempo de seguimiento clínico posoperatorio no menor de 5 años para los meningiomas no recidivantes o información disponible acerca de las intervenciones quirúrgicas subsecuentes en caso de meningiomas recidivantes; y, 6) material histológico disponible de buena calidad representativo del tumor inicialmente resecado.

Luego de la exclusión de los pacientes con meningiomas múltiples y de la aplicación de los criterios de inclusión en los pacientes restantes, un total de 46 casos fueron seleccionados para la comparación de los IM de la proteína p53 entre meningiomas no recidivantes (n = 23) y recidivantes (n = 23). En el primer grupo se incluyeron 11 meningiomas transicionales, 2 meningoteliales, 2 fibroblásticos, 3 microquísticos, 2 secretores, 1 metaplásico (xantomatoso) y 2 atípicos. El grupo de tumores recidivantes estuvo conformado por 13 meningiomas transicionales, 2 meningoteliales, 2 fibroblásticos, 1 microquístico, 1 metaplásico (xantomatoso), 2 atípicos, 1 de células claras y 1 papilar.

Mediante selección realizada al azar, se incluyeron 47 pacientes adicionales para obtener números representativos de tumores dentro de cada grado histológico (41 meningiomas grado I, 23 grado II y 10 grado III) y poder comparar así los IM de la proteína p53 entre los diferentes grados histológicos de los meningiomas. Dentro del grado I se incluyeron 11 meningiomas transicionales y cinco de cada uno de los siguientes subtipos: meningotelial, fibroblástico, microquístico, angiomatoso, secretor y metaplásico (xantomatoso). Los tumores grado II estuvieron conformados por 12 meningiomas atípicos, 9 de células claras y 2 cordoides, mientras que para el grado III se seleccionaron 4 meningiomas malignos y 6 papilares.

Se utilizó un anticuerpo primario monoclonal de ratón (DO-7; Dako, Carpintería, EE.UU; dilución 1:75) para la detección inmuno-histoquímica de la proteína p53 en los casos seleccionados. Para tal efecto, cortes histológicos de 4 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, EE.UU*). 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, EE.UU), se aplicó un anticuerpo secundario anti-Ig G 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 sustrato y el cromógeno 3,3'-diaminobencidina (sistema DynaChrome; ThermoShandon, Pittsburg, EE.UU) 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 de colon con reactividad conocida para la proteína p53, 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 la proteína p53, 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 inmunorreactivas. 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 Plus version 3.0 for Windows™ (Media Cybernetics, L.P; Silver Spring, Maryland, EE.UU). Una vez obtenidos los IM de la proteína p53 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 de la proteína p53 entre meningiomas recidivantes y no recidivantes y entre los diferentes grados histológicos fueron evaluadas mediante las pruebas estadísticas  $\chi^2$ , prueba de probabilidad exacta de Fisher, t test no pareado y ANOVA de una vía, utilizando para ello un intervalo de confianza de 95 % y un valor de P significativo menor de 0,05. Para tal efecto, se emplearon los programas computarizados Microsoft Excel, EPISTAT, Graphpad InStat y Sigma Plot. Los puntos de corte del IM de la proteína p53 entre meningiomas no recidivantes y recidivantes y entre meningiomas de diferentes grados histológicos fueron establecidos a través del programa computarizado TG-ROC (*Two-Graph Receiver Operating Characteristic, versión 070397e for MS-Excel*) (66). La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivos y negativos de cada punto de corte fueron estimados con un intervalo de confianza de 95 %. Finalmente, las curvas de supervivencia libres de recidivas fueron graficadas mediante el método de Kaplan-Meier y evaluadas estadísticamente con el log-rank test a través del programa WinSTAT for Excel (R. Fitch Software, versión 2005.1).

## RESULTADOS

El estudio inmunohistoquímico de la proteína p53 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 posoperatorio 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 de la proteína p53 y grado histológico

El IM de la proteína p53 fue estimado en 74 meningiomas de diferentes grados histológicos (41

## INMUNOHISTOQUÍMICA DE LA PROTEÍNA p53

grado I, 23 grado II y 10 grado III). Los promedios del IM de la proteína p53 fueron de 37,15 % para los meningiomas grado I, 44,49 % para los grado II y 57,81 % para los grado III, siendo la diferencia global estadísticamente significativa ( $P=0,0039$ ) (Cuadro 1 y Figura 1). La comparación específica de los IM de la proteína p53 obtenidos para cada grado histológico demostró significancia estadística entre los grados I y III ( $P=0,0013$ ) y entre II y III ( $P=0,0397$ ), pero no entre los grados I y II ( $P=0,1216$ ) (Cuadro 1). Tomados como un grupo, los meningiomas no benignos (grados II-III) mostraron un IM promedio de la proteína p53 de 48,52 %, cifra ésta significativamente mayor ( $P=0,0076$ ) a la observada dentro del grupo de meningiomas benignos grado I (37,15 %) (Cuadro 1).

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 de la proteína p53 equivalente a 40 %. Así, el IM de la proteína p53 en meningiomas benignos (grado I) fue  $< 40$  % en 25 casos (60,98 %) y  $\geq 40$  % en 16 (39,02 %), en contraste con el grupo de meningiomas no benignos (grados II-III) donde el IM fue  $< 40$  % en 8 casos (24,24 %) y  $\geq 40$  % en 25 (75,76 %), siendo la diferencia estadísticamente

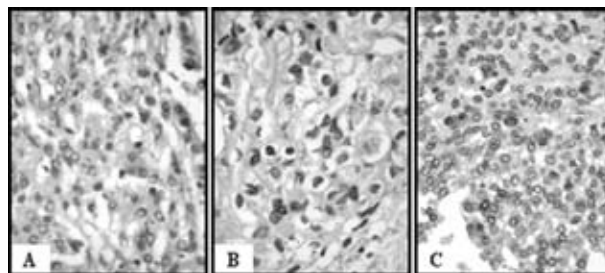


Figura 1. Representación comparativa de los índices de marcaje inmunohistoquímico (IM) de la proteína p53 entre los diferentes grados histológicos de los meningiomas. A) IM de 32,39 % en un meningioma secretor (grado I); B) IM de 46,90 % en un meningioma de células claras (grado II); y, C) IM de 68,04 % en un meningioma papilar (grado III). (A, B y C: EnVision/DAB, 400x).

significativa ( $P<0,0015$ ) (Figura 2). La especificidad y la sensibilidad para este punto de corte fueron de 60,98 % y 75,76 %, respectivamente, en tanto que los valores predictivos positivo y negativo correspondieron a 60,98 % y 75,76 %, respectivamente.

Los meningiomas grado I con IM  $\geq$  de 40 % correspondieron a 4/11 meningiomas transicionales (IM de 44,70 % a 56,63 %), 2/5 meningoteliales

Cuadro 1

Comparación del índice de marcaje de la proteína p53  
entre los grados histológicos de los meningiomas

|   | I (n=41)          | Grados histológicos<br>II (n=23) | III (n=10)        | Valor de P  |
|---|-------------------|----------------------------------|-------------------|---|
| Promedio $\pm$ DE del IM de la proteína p53 (%) |                   |                                  |                   | 0,0039 <sup>a</sup>   |
| (Rango)   | 37,15 $\pm$ 18,05 | 44,49 $\pm$ 17,71                | 57,81 $\pm$ 12,54 | I vs II: 0,1216 <sup>b</sup>                                    |
| Comparación de todos los grados                 | (8,13–84,40)      | (9,41–76,16)                     | (37,91–75,32)     | I vs III: 0,0013 <sup>b</sup><br>II vs III: 0,0397 <sup>b</sup> |
| Promedio $\pm$ DE del IM de la proteína p53 (%) |                   |                                  |                   |   |
| (Rango)   | 37,15 $\pm$ 18,05 | 48,52 $\pm$ 17,28                |                   | 0,0076 <sup>b</sup>   |
| Comparación de grados I vs II-III               | (8,13–84,40)      | (9,41–76,16)                     |                   |   |

<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).

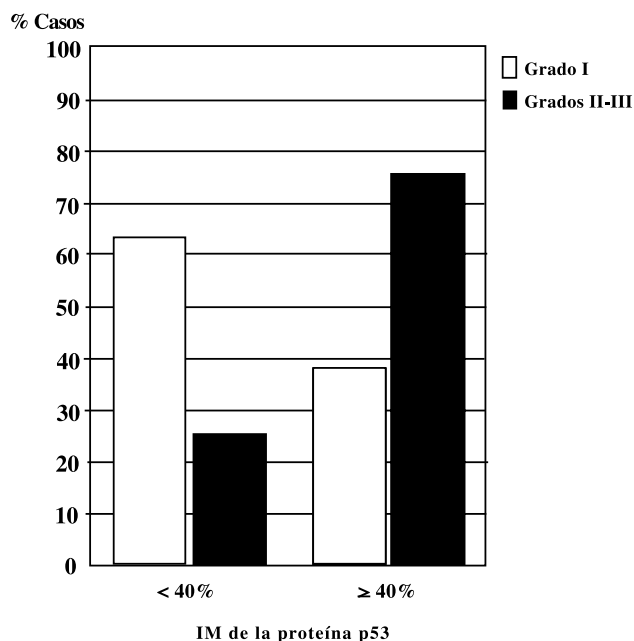
(43,61 % y 82,80 %), 2/5 fibroblásticos (45,53 % y 84,40 %), 2/5 microquísticos (46,21 % y 54,97 %), 1/5 secretores (65,37 %), 3/5 angiomasos (47,48 % a 60,23 %) y 2/5 metaplásicos (41,48 % y 45,53 %) (datos no mostrados). Entre los meningiomas no benignos (grados II-III), los tumores con IM < 40 % comprendieron 3/12 meningiomas atípicos (IM de 16,60 % a 36,04 %), 3/9 de células claras (14,37 % a 39,29 %), 1/2 cordoides (9,41 %) y 1/6 papilares (37,91 %) (datos no mostrados).

### IM de la proteína p53 y riesgo de recidivas

Para intentar predecir el riesgo de recidivas en meningiomas, los IM para la proteína p53 fueron estimados en 46 tumores (23 no recidivantes vs 23 recidivantes). Los promedios del IM de la proteína p53 fueron de 32,29 % para los meningiomas no recidivantes y 46,19 % para los recidivantes, siendo la diferencia estadística significativa (P=0,0021)

(Cuadro 2 y Figura 3). Al considerar sólo a los meningiomas benignos en ambos grupos (21 no recidivantes vs. 19 recidivantes), la diferencia estadística se mantuvo (P=0,0074) entre los IM de meningiomas no recidivantes (31,74 %) y recidivantes (45,19 %) (Cuadro 2). Según la prueba TG-ROC, el punto de corte de 40 % fue útil (P=0,0003) para discriminar entre meningiomas no recidivantes y recidivantes. Así, el IM promedio de la proteína p53 en meningiomas no recidivantes fue < 40 % en 20 casos (86,96 %) y ≥ 40 % en 3 (13,04 %), en contraste con el grupo de meningiomas recidivantes donde el IM promedio fue < 40 % en 8 casos (34,78 %) y ≥ 40 % en 15 (65,22 %) (Figura 4). La especificidad y la sensibilidad para este punto de corte fueron de 86,96 % y 65,22 %, respectivamente, en tanto que los valores predictivos positivo y negativo correspondieron a 83,33 % y 71,43 %, respectivamente.

Los meningiomas no recidivantes con IM ≥ de 40 % correspondieron a 2/21 tumores grado I (IM de 50,56 % y 54,97 %) y 1/2 grado II (49,36 %) (datos



E: 60,98 % (IC95: 44,50–75,80)  
 S: 75,76 % (IC95: 57,74–88,91)  
 VPP: 60,98 % (IC95: 44,50–75,80)  
 VPN: 75,76 % (IC95: 57,74–88,91)

<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 inmunopositivas 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).

Figura 2. Punto de Corte<sup>a</sup> del índice de marcaje de la proteína p53 para discriminar entre meningiomas benignos (grado I) y no benignos (grados II-III).

## INMUNOHISTOQUÍMICA DE LA PROTEÍNA p53

Cuadro 2

Comparación del IM de la proteína p53 entre meningiomas no recidivantes y recidivantes

|  | No recidivantes<br>(n=23)               | Recidivantes<br>(n=23)                   | Valor de P<br>(t test no pareado) |
|--|---|--|-----------------------------------|
| Promedio ± DE del IM de la proteína p53 (%)<br>(Rango) |   |  |                                   |
| Todos los grados histológicos                          | 32,29 ± 11,78<br>(8,13–54,97)<br>(n=21) | 46,19 ± 16,67<br>(19,35–84,40)<br>(n=19) | 0,0021                            |
| Promedio ± DE del IM de la proteína p53 (%)<br>(Rango) |   |  |                                   |
| Sólo meningiomas grado I <sup>a</sup>                  | 31,74 ± 11,68<br>(8,13–54,97)           | 45,19 ± 18,01<br>(19,35–84,40)           | 0,0074                            |

<sup>a</sup> Se excluyen 2 meningiomas no recidivantes (grado II) y 4 recidivantes (3 grado II y 1 grado III).

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).

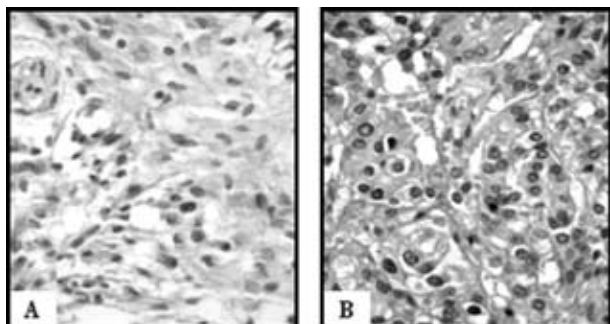


Figura 3. Representación comparativa de los índices de marcaje inmunohistoquímico (IM) de la proteína p53 entre un meningioma no recidivante (A, meningioma transicional con IM de 36,07 %) y un meningioma recidivante) B, meningioma meningotelial con IM de 46,44 %). (A y B: EnVision/DAB, 400x).

no mostrados). Entre los meningiomas recidivantes, todos los tumores con IM < 40 % fueron meningiomas del grado I (índices de 19,35 % a 36,10 %) (datos no mostrados).

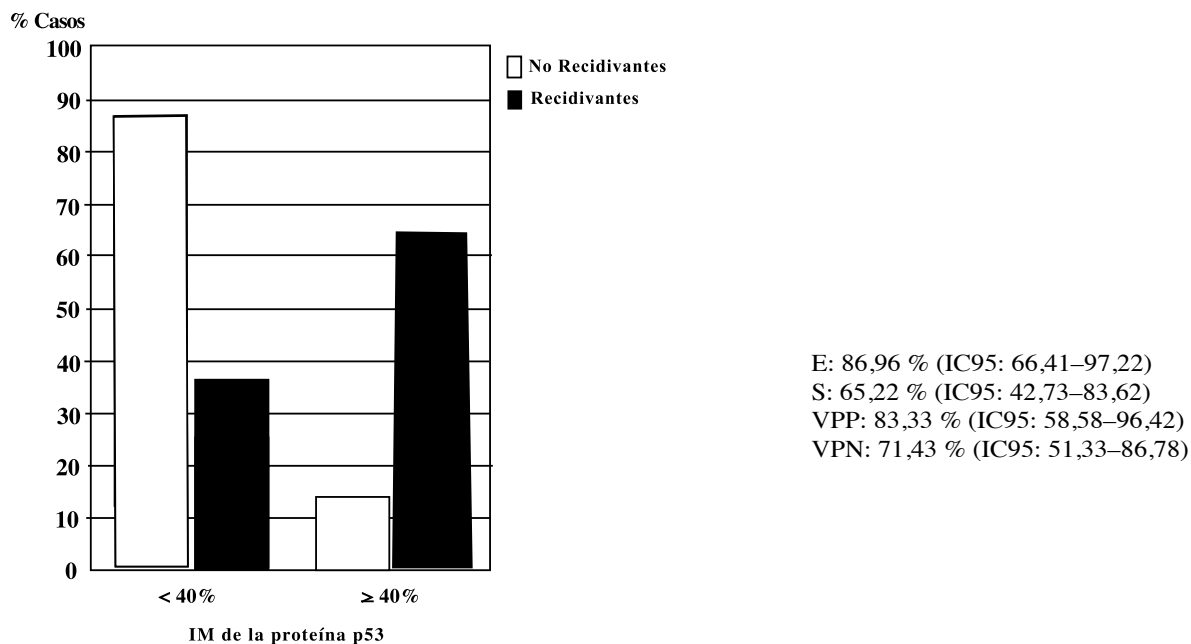
Mediante el método de Kaplan-Meier se obtuvo una curva de supervivencia libre de recidivas significativamente superior ( $P < 0,0001$ ) en los meningiomas con IM de la proteína p53 < 40 % en

comparación con aquellos meningiomas con IM  $\geq$  40 % (Figura 5).

### DISCUSIÓN

El gen supresor tumoral TP53 codifica una fosfoproteína nuclear de 53 Kd conocida como proteína p53, de cuya integridad funcional depende en buena medida el control del ciclo celular, diferenciación celular, mantenimiento de la estabilidad genómica, envejecimiento celular y apoptosis (59,60). Ante la presencia de cualquier daño genético, la proteína p53 se activa para secuestrar a la célula afectada en la fase G1 del ciclo celular, generando apoptosis en una fase previa a la replicación del ácido desoxirribonucleico (ADN) en caso de que las alteraciones genéticas sean irreparables (60,67). La inactivación funcional de la proteína p53 es inducida por mutaciones y pérdidas alélicas del TP53, lo que al parecer representa un paso universal para el desarrollo de una gran variedad de neoplasias humanas (60).

El marcaje inmunohistoquímico de la proteína p53 como factor pronóstico en neoplasias representa quizás uno de los temas más controvertidos en el campo de la patología oncológica. Aunque se ha demostrado que la expresión inmunohistoquímica de la proteína p53 en meningiomas guarda relación aparente con el grado histológico y riesgo de



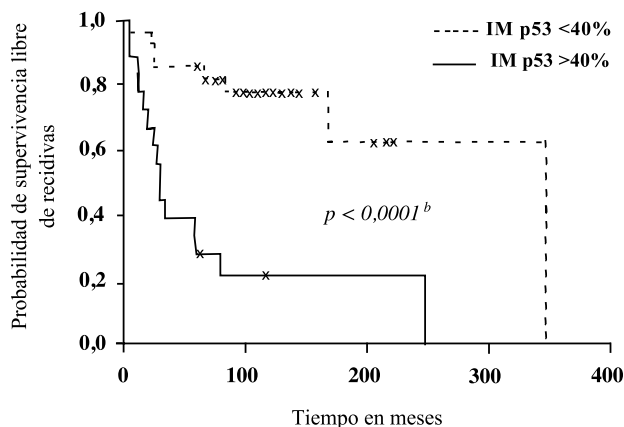
<sup>a</sup> Establecido por TG-ROC (Two-Graph Receiver Operating Characteristic). <sup>b</sup> Prueba de probabilidad exacta de Fisher. IM: índice de marcaje inmunohistoquímico (% de células inmunopositivas sobre un total no menor de 3 000 células neoplásicas). E: especificidad. S: sensibilidad. VPP: valor predictivo positivo. VPN: valor predictivo negativo. FUENTE: Archivo de biopsias de la Sección de Neuropatología del IAP-UCV (1980-2003).

Figura 4. Punto de corte a del índice de marcaje de la proteína p53 para discriminar entre meningiomas no recidivantes y recidivantes.

recidivas (10,61-65,68,71), resulta difícil establecer una comparación de resultados entre los diferentes estudios realizados al respecto, debido a que no existe un consenso claro acerca del IM por encima del cual resulta anormal la expresión de la proteína p53 y a la adopción de múltiples sistemas para clasificar la intensidad y la distribución del inmunomarcaje positivo. Así por ejemplo, Nagashima y col. (70) hacen notar en su publicación la presencia de algunas células con positividad débil para la proteína p53 en 5 de 52 meningiomas benignos, ninguna célula positiva en meningiomas atípicos y positividad de fuerte intensidad en 5 meningiomas malignos, resultados estos que no pueden compararse con los reportados por Amatya y col. (65), quienes presentan IM promedios de p53 equivalentes a  $1,1 \pm 3,1$  % para los meningiomas grado I,  $3,5 \pm 5,8$  % para los grado II y  $6,3 \pm 4,2$  % para los grado III.

Tomando en cuenta la proporción de casos positivos con base a un IM superior al 1 %, Matsuno y col. (62) y Cho y col. (71) encontraron en series relativamente grandes de meningiomas un incremento en el número de tumores que expresaron la proteína p53 en relación con la progresión del grado histológico, informando resultados positivos en 9,5 % de los meningiomas benignos, en 57,1 % a 72,7 % de los atípicos y en 88,9 % a 100 % de los malignos. Por su parte, Kamei y col. (64) informaron inmunoexpresión de proteína p53 (también definida con un  $IM \geq 1$  %) en 22 % de los meningiomas benignos y en 54 % de los atípicos/anaplásicos, pero al considerar sólo a un grupo de 45 meningiomas benignos demostraron además una diferencia significativa en cuanto al porcentaje de casos positivos entre meningiomas recidivantes (80 %) y no recidivantes (15 %), resultados estos que coincidieron con los reportados por Cho y col. (71),





<sup>a</sup> Graficado por el método de Kaplan-Meier. <sup>b</sup> Log-rank test.

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 5. Curvas de supervivencia libre de recidivas<sup>a</sup> para un punto de corte del índice de marcaje de la proteína p53 de 40 %.

quienes encontraron inmunopositividad para p53 en 71,4 % de los meningiomas recidivantes y en 10,5 % de los no recidivantes.

Utilizando un IM límite de 10%, Karamitopoulou y col. (61) estudiaron una serie de 60 meningiomas y obtuvieron resultados positivos para la proteína p53 también relacionados con el grado histológico (positividad en 10,8 % de los meningiomas benignos, en 50 % de los atípicos y en 77 % de los malignos), pero no pudieron demostrar diferencia alguna entre meningiomas benignos no recidivantes (10,34 %) y recidivantes (12,5 %). En contraste, todos los meningiomas no recidivantes (10 casos) evaluados por Miyagami y col. (68) resultaron negativos para la proteína p53, en tanto que 5 de 8 tumores recidivantes expresaron p53 con IM que oscilaron entre 0,5 % a 8,5 %. Al comparar los IM de p53 entre meningiomas recidivantes y no recidivantes con un seguimiento clínico promedio de 6,7 años, Lanzafame y col. (10) encontraron significancia estadística para un punto de corte equivalente a 1 % (IM < 1 % en 16/30 meningiomas no recidivantes y ≥ 1 % en 12/15 recidivantes).

Con algunas excepciones, la mayoría de los

estudios demuestran que la proteína p53 se expresa con mayor frecuencia e intensidad en los meningiomas recidivantes, razón por la cual diferentes autores coinciden en señalar que la expresión anormal de p53 se asocia con un pronóstico peor. Sin embargo, la evidencia acumulada al respecto no necesariamente es concluyente y pareciera sensato asumir que no todo está escrito acerca de la proteína p53. Un ejemplo ilustrativo de ello tiene que ver con el estudio publicado por Hakin-Smith y col. (69), quienes por el contrario señalan que el elevado nivel de expresión de la proteína p53 en meningiomas benignos está relacionado más bien con una evolución favorable, puesto que ninguno de sus 10 tumores con expresión fuerte de la proteína p53 (IM ≥ 50 %) recidivaron y 29/65 (29 %) de los casos con IM < 50 % si lo hicieron.

En nuestro estudio, el IM promedio de la proteína p53 (porcentaje de células positivas) estuvo relacionado con el grado histológico (37,15 % para los meningiomas benignos, 44,49 % para los atípicos y 58,81 % para los malignos) y fue más elevado en meningiomas recidivantes (48,52 % vs 37,15 % de los no recidivantes). Tomado como punto de corte, el IM de 40 % nos resultó estadísticamente satisfactorio para separar a los tumores benignos (IM < 40 % en 61 % de los casos) de los no benignos (grados II-III) (IM ≥ 40 % en 76 % de los casos) (P=0,0015) y discriminar entre meningiomas no recidivantes (IM < 40 % en 87 % de los casos) y recidivantes (IM ≥ 40 % en 65 % de los casos) (P=0,0003), con una probabilidad de supervivencia libre de recidivas significativamente superior (P<0,0001) para los meningiomas con IM < 40 %. Si bien es cierto que las diferencias observadas en cuanto a los IM para la proteína p53 arrojaron la significancia estadística esperada en relación con el grado histológico y recidivas en los meningiomas, llama la atención que las cifras obtenidas son considerablemente elevadas si se comparan con las informadas en los diferentes estudios citados.

La mayoría de los investigadores han utilizado también al anticuerpo monoclonal DO-7 para marcar la proteína p53, pero variaciones inherentes a la técnica inmunohistoquímica pueden determinar diferencias en los resultados obtenidos de un laboratorio a otro, siendo críticos en este sentido el método de recuperación antigénica y el sistema de detección empleado. Como sistema de detección de los anticuerpos primarios, la tecnología basada en polímeros sintéticos ha demostrado una sensibilidad inmunohistoquímica mucho mayor que la del

complejo de la estreptavidina-biotina-peroxidasa (72,73), lo que pudiera explicar en parte nuestros IM notablemente elevados para la proteína p53. No obstante y aunque fuera del contexto de los meningiomas, vale la pena señalar que Abdulmohsen y col. (74) demostraron en carcinomas de endometrio que la expresión inmunohistoquímica de la proteína p53 resultaba de valor pronóstico sólo cuando el IM superaba el 50 %, en contraposición con los puntos de corte convencionales de 5 % y 10 % adoptados por otros investigadores.

Resulta oportuno señalar que los anticuerpos comercialmente disponibles para identificar a la proteína p53 mediante métodos inmunohistoquímicos son incapaces de discriminar entre la proteína p53 normal y la proteína p53 aberrante producida por mutaciones genéticas (59,62). La proteína p53 normal tiene una vida media muy corta (aproximadamente 20 minutos) y generalmente no puede ser detectada mediante inmunohistoquímica (60), aunque resultados positivos se han descrito en relación con su acumulación excesiva por una vía defectuosa de la ubiquitina (75) o por la estabilización e inactivación ejercida por otras proteínas nucleares, como por ejemplo mdm2 (60,63,69,76). En contraste, la proteína p53 aberrante forma complejos estables con algunas otras proteínas nucleares y presenta una vida media más prolongada (horas), razón por la cual resulta fácilmente detectable por métodos inmunohistoquímicos (60).

A pesar que se ha encontrado una expresión de proteína p53 anormalmente elevada en algunos meningiomas, particularmente en aquellos con un mayor grado histológico, alto potencial de recidivas y elevada actividad proliferativa, la detección de mutaciones en el gen TP53 ha sido un hallazgo infrecuente en estos tumores, lo que hace suponer que algún otro mecanismo (no relacionado con mutaciones genéticas) sea el responsable de la expresión anormal de p53 en meningiomas (62,65,69,70,77,78). Ohgaki y col. (79), Ohkoudo y col. (63) y Amatya y col. (80) no encontraron ninguna mutación en los exones 4-8 del TP53 en sus series de meningiomas, en tanto que Mayashima y col. (81) detectaron una mutación en el exon 5 en apenas uno de 8 meningiomas estudiados y Yakut y col. (82) sólo fueron capaces de demostrar delección del gen p53 en 3 de 11 meningiomas, uno de ellos atípico y los dos restantes anaplásicos. Más allá del dominio central (exones 4-8) del gen, las mutaciones del TP53 siguen siendo infrecuentes en meningiomas y así lo demostraron Verheijen y col. (77), quienes encontraron sólo polimorfismos

comunes (codones 36 y 72) y cambios de localización de nucleótidos en algunos de sus 17 meningiomas cuya secuencia del TP53 fue estudiada a plenitud (11 exones). De todo esto se desprende que tanto la expresión inmunohistoquímica de la proteína p53 en meningiomas como el papel que juega el gen TP53 en la génesis de estos tumores continúan siendo controversiales.

En conclusión, nuestros resultados sugieren que un IM de la proteína p53 igual o superior a 40 % 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 Peñalosa, Joyce Santiago, Belinda Albarrán y Liliana Rodríguez, por su valiosa colaboración en la realización de cada una de las etapas del proyecto de investigación.

## REFERENCIAS

1. Lantos PL, VanderBerg SR, Kleihues P. Tumours of the nervous system. En: Graham DI, Lantos PL, editores. Greenfield's neuropathology. Londres: Arnold; 1996.p.583-879.
2. Kepes JJ. Meningiomas. Biology, pathology, and differential diagnosis. Nueva 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. En: Kleihues P, Cavenee WK, editores. *Pathology and genetics of tumors of the nervous system. World Health Organization Classification of Tumors*. Lyon: International Agency for Research on Cancer (IARC), 2000.p.175-184.
  6. Burger PC, Scheithauer BW, Vogel FS. *Surgical pathology of the nervous system and its coverings*. 4ª edición. Nueva 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, Emmanuele 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, OvuI 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, Mahera H, Hranioti S, Kotsiakos 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 clinico-morphological 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, Efrid 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, Izicka 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. Cerda NM, Lopez GC, Perez BM, Barcia SJL, Lombart 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. Harris CC, Hollstein M. Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene. *N Engl J Med*. 1993;329:1318-1327.
  61. 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.
  62. Matsuno A, Nagashima T, Matsuura R, Tanaka H, Hirakawa M, Murakami M, et al. Correlation between MIB-1 staining index and the immunoreactivity of p53 protein in recurrent and non-recurrent meningiomas. *Am J Clin Pathol*. 1996;106:776-781.
  63. Ohkoudo M, Sawa H, Hara M, Saruta K, Aiso T, Ohki R, et al. Expression of p53, MDM2 protein and Ki-67 antigen in recurrent meningiomas. *J Neurooncol*. 1998;38:41-49.
  64. 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.
  65. Amatya VJ, Takeshima Y, Sugiyama K, Kurisu K, Nishisaka T, Fukuhara T, et al. Immunohistochemical study of Ki-67 (MIB-1), p53 protein, p21WAF1, and p27KIP1 expression in benign, atypical, and anaplastic meningiomas. *Hum Pathol*. 2001;32:970-975.
  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. Smith ML, Fornace AJ Jr. The two faces of tumor suppressor p53. *Am J Pathol*. 1996;148:1019-1022.
  68. 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;48:719-725.
  69. 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.
  70. Nagashima G, Aoyagi M, Yamamoto M, Yamamoto S, Wakimoto H, Ohno K, et al. P53 overexpression and proliferative potential in malignant meningiomas. *Acta Neurochir (Wien)*. 1999;141:53-61.
  71. Cho H, Ha SY, Park SH, Park K, Chae YS. Role of p53 gene mutation in tumor aggressiveness of intracranial meningiomas. *J Korean Med Sci*. 1999;14:199-205.
  72. Boenisch T, editor. *Métodos inmunohistoquímicos de coloración*. 3ª edición. California: Dako Corporation; 2002.
  73. Dabbs DJ. *Diagnostic immunohistochemistry*. Nueva York: Churchill-Livingstone; 2002.
  74. Alkushi A, Lim P, Coldman A, Huntsman D, Miller D, Gilks CB. Interpretation of p53 immunoreactivity in endometrial carcinoma: Establishing a clinically relevant cut-off level. *Int J Gynecol Pathol*. 2004;23:129-137.

75. Chowdary DR, Dermody JJ, JHA KK, Ozer HL. Accumulation of p53 in a mutant cell line defective in the ubiquitin pathway. *Mol Cell Biol.* 1994;14:1997-2003.
76. Pykett MJ, Landers J, George DL. Expression patterns of the p53 tumor suppressor gene and the mdm2 protooncogen in human meningiomas. *J Neurooncol* 1997;32:39-44.
77. Verheijen FM, Sprong M, Kloosterman JM, Blaauw G, Thijssen JH, Blankenstein MA. TP53 mutations in human meningiomas. *Int J BiolMarkers.* 2002;17:42-48.
78. Das A, Tan WL, Smith DR. p53 point mutation is rare in meningiomas from singaporean patients. *Asian J Surg.* 2005;28:7-10.
79. Ohgaki H, Eibl RH, Schwab M, et al. Mutations of the p53 tumor suppressor gene in neoplasms of the human nervous system. *Mol Carcinog.* 1993;8:74-80.
80. Amatya VJ, Takeshima Y, Inai K. Methylation of p14(ARF) gene in meningiomas and its correlation to the p53 expression and mutation. *Mod Pathol.* 2004;17:705-710.
81. Mayashima S, Murakami Y, Yoshimoto T, Sekiya T, Hayashi K. Detection of p53 gene mutations in human brain tumors by single-strand conformation polymorphism analysis of polymerase chain reaction products. *Oncogene.* 1991;6:1313-1318.
82. Yakut T, Bekar A, Doygun M, Acar H, Egeli U, Ogul E. Evaluation of relationship between chromosome 22 and p53 gene alterations and the subtype of meningiomas by the interphase-FISH technique. *Teratog Carcinog Mutagen.* 2002;22:217-225.

*...viene de Gac Méd Caracas 2008;116:167*

## Los intelectuales: Grandes enemigos de los libros

Dr. Fernando Baéz

El 10 de mayo fue un día agitado. Los miembros de la Asociación de Estudiantes Alemanes comenzaron a recoger todos los libros prohibidos. Había una euforia inesperada, contagiosa. Los libros, junto con los que se habían obtenido en centros como el Instituto de Investigaciones Sexuales o en las bibliotecas de judíos capturados, fueron transportados a Opernplatz. En total, el número de obras sobrepasaba los 25.000. Pronto, se concentró una multitud alrededor de los estudiantes. Éstos empezaron a cantar un himno que causó gran impresión entre los espectadores. La primera consigna fue fulminante:

Contra la clase materialista y utilitaria. Por una comunidad de Pueblo y una forma ideal de vida. Marx, Kautsky.

La hoguera ya estaba encendida con kerosene desde las 11:30. Joseph Goebbels, que había peleado ese día con su indomable mujer, levantó la voz y después de saludar con un estruendoso Heil, explicó los motivos de la quema:

La época extremista del intelectualismo judío ha llegado a su fin y la revolución de Alemania ha abierto las puertas nuevamente para un modo de vida que

permita llegar a la verdadera esencia del ser alemán. Esta revolución no comienza desde arriba, sino desde abajo, y va en ascenso. Y es, por esa razón, en el mejor sentido de la palabra, la expresión genuina de la voluntad del Pueblo[...]

Durante los pasados catorce años Uds., estudiantes, sufrieron en silencio vergonzoso la humillación de la República de Noviembre, y sus bibliotecas fueron inundadas con la basura y la corrupción del asfalto literario de los judíos. Mientras las ciencias de la cultura estaban aisladas de la vida real, la juventud alemana ha reestablecido ahora nuevas condiciones en nuestro sistema legal y ha devuelto la normalidad a nuestra vida[...]

Las revoluciones que son genuinas no se paran en nada. Ninguna área debe permanecer intocable[...]

Por tanto, Uds. están haciendo lo correcto cuando Uds., a esta hora de medianoche, entregan a las llamas el espíritu diabólico del pasado[...]

El anterior pasado perece en las llamas; los nuevos tiempos renacen de esas llamas que se queman en nuestros corazones[...]

*Continúa en pág. 240*