

**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE
BARCELONA
FACULTAD DE MEDICINA**

**FACTORES PRONOSTICOS DE
RECIDIVA EN LOS MENINGIOMAS:
ESTUDIO DE CINETICA CELULAR**

**TESIS DOCTORAL PRESENTADA POR
EMILIO GALITO VINYALS
PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
EN MEDICINA Y CIRUGIA**



Biblioteca General
Edifici A
08193 Bellaterra (Barcelona) Espanya

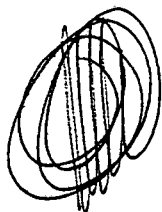
SEPTIEMBRE 1995

Informe del Profesor Antonio Sitges Serra, Professor Titular de Patología Quirúrgica de la Universitat Autònoma de Barcelona y Director de la Tesis Doctoral **"Factores pronósticos de recidiva de los meningiomas: Estudio de cinética celular"** presentada por el licenciado Emilio Galitó Vinyals

Considero que la Tesis Doctoral **"Factores pronósticos de recidiva en los meningiomas: Estudio de cinética de celular"**, fruto de una investigación clínica original, realizada por el licenciado Emilio Galitó Vinyals, es apta para ser defendida ante el tribunal que ha de juzgarla

La memoria presenta un trabajo de investigación clínica sobre los factores pronósticos de la recidiva en cien casos de meningiomas intervenidos quirúrgicamente. El interés del trabajo reside, fundamentalmente, en el estudio detallado de la cinética celular de los meningiomas realizado mediante citometría de flujo y de las regiones organizadoras nucleolares (AgNOR). El interés fisiopatológico y oncológico del tema y sus implicaciones clínicas hacen que, a nuestro juicio, este trabajo científico sea apto para ser presentado como Tesis Doctoral.

En Barcelona, a 9 de Setiembre de 1995



A. Sitges Serra
Profesor Titular de Patología Quirúrgica
Universitat Autònoma de Barcelona
Jefe de Departamento de Cirugía
Hospital Universitari del Mar

ALS MEUS PARES

A MATILDE, ADRIA I LIVIA

AGRADECIMIENTOS

- Al Profesor Antonio Sitges Serra, Jefe de Servicio de cirugía del Hospital del Mar quien ha dirigido la realización de esta tesis, con el interés y profesionalidad que le son propios.
- Al Dr. Francisco Alameda Quittlet, médico adjunto del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital del Mar, quien con su insistencia y ayuda ha sido el principal causante de que esta tesis vea la luz.
- A las Dras. Teresa Ribalta Farrés y Carme Mallofré Gómez del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínic de Barcelona quienes con su permanente y desinteresado apoyo en el estudio de citometría de flujo han hecho posible la realización de esta tesis.
- Al Sr. Jaume Muntaner Casasús, biólogo del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínic de Barcelona, quien con su ayuda en la metodología y en la interpretación de los histogramas, ha sido pieza fundamental del estudio.
- Al Dr. Jaume Marrugat de la Iglesia, Jefe de Servicio del Departament de Coordinació i Soport per la Recerca del Institut Municipal d'Investigació Mèdica de Barcelona, por su paciencia y elaboración del estudio estadístico.
- Al Sr. Marco Pavesi, del Departament de Coordinació i Soport per la Recerca del Institut Municipal d'Investigació Mèdica de Barcelona, quien me ha introducido en los recovecos del análisis estadístico y sin cuya ayuda esta tesis no hubiera sido posible.

- A las Dras. M^a José Guardiola Romojaro y Gemma García Fructuoso, Adjuntas del Servicio de Neurocirugía del Hospital del Mar, por haberme soportado y suplido en mis deficiencias.
- A la Dra. Araceli González, médico rotatorio, por el apoyo desinteresado que ha prestado al Servicio de Neurocirugía.
- A la Srta. Janina Turón, rotatorio de especialidad de Neurocirugía, por la exhaustiva búsqueda bibliográfica.
- Al Dr. Josep Llovet Tapies, ex-Jefe de Servicio de Neurocirugía del Hospital del Mar, bajo cuya tutela inicié mis pasos en la práctica de la Neurocirugía.
- Al Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social, que con la concesión de la Beca de Investigación 94/1217, ha hecho posible la financiación del estudio.
- Al personal del Institut Municipal d'Investigació Mèdica de Barcelona, que bajo la dirección del Profesor Jordi Camí, aporta un apoyo inestimable en el desarrollo de la Investigación.
- En especial, quiero agradecer a mi familia la comprensión que me ha mostrado, en las múltiples carencias que he tenido con ellos, las cuales espero suplir en el futuro.

INDICE

1. <u>INTRODUCCION</u>	1
2. <u>FUNDAMENTOS DE LA TESIS</u>	5
2.1. RESEÑA HISTORICA.....	6
2.2. GENERALIDADES DE LOS MENINGIOMAS.....	7
2.3. PATOGENESIS DE LOS MENINGIOMAS.....	8
2.4. HISTOPATOLOGIA DE LOS MENINGIOMAS.....	14
2.4.1. Clasificación.....	14
2.4.2. Meningiomas : rasgos histológicos.....	17
2.4.3. Meningiomas malignos.....	22
2.5. MENINGIOMAS Y RECIDIVA.....	25
2.6. CITOGENETICA Y BIOLOGIA MOLECULAR.....	28
2.6.1. Citogenética.....	28
2.6.2. Citocinética.....	31
2.6.2.1. Crecimiento tumoral.....	31
2.6.2.2. Ciclo celular.....	32
2.6.2.3. Concepto de ploidia, Citometría de Flujo....	36
2.6.2.4. Marcadores de proliferación.....	43

2.6.2.4.1. <i>Timidina</i>	43
2.6.2.4.2. <i>Ki-67</i>	44
2.6.2.4.3. <i>BUdR</i>	45
2.6.2.4.4. <i>NORs</i>	47
2.6.3. Factores que predisponen a la formación de meningiomas.....	49
2.6.3.1. <i>Factores genéticos</i>	49
2.6.3.2. <i>Virus</i>	50
2.6.3.3. <i>Radioterapia</i>	51
2.6.3.4. <i>Traumatismos</i>	54
2.6.3.5. <i>Factores hormonales</i>	54
3. <u>OBJETIVOS</u>	59
4. <u>PACIENTES, MATERIAL Y METODOS</u>	62
4.1. PACIENTES. CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION..	63
4.2. CLINICA	64

4.3. DISTRIBUCION DE LOS MENINGIOMAS.....	65
4.4. GRADOS DE EXTIRPACION DE SIMPSON.....	66
4.5. CLASIFICACION PATOLOGICA.....	67
4.6. METODO DE GRADACION TUMORAL.....	72
4.6.1. Pleomorfismo Nuclear.....	72
4.6.2. Hiper celularidad.....	74
4.6.3. Indice Mitótico.....	75
4.6.4. Necrosis.....	76
4.6.5. Pérdida de la arquitectura.....	77
4.6.6. Invasión del parénquima.....	78
4.7. SEGUIMIENTO.....	79
4.8. METODOLOGIA DEL ESTUDIO DEL DNA MEDIANTE CITOMETRIA DE FLUJO. PLOIDIA.....	80
4.8.1. Método de Hedley modificado.....	81
4.8.2. Solución stock de Ioduro de Propidio y RNasa	83
4.9. TECNICA DE LOS Ag NORs	84
4.10. ANALISIS ESTADISTICO.....	87

5. <u>RESULTADOS</u>	89
5.1. CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS.....	90
5.1.1. Edad y Sexo.....	90
5.1.2. Cirugía.....	91
5.1.3. Clínica.....	91
5.1.4. Localización	92
5.1.5. Tipo Histológico.....	93
5.1.6. Necrosis.....	93
5.1.7. Grado.....	94
5.1.8. Estado.....	94
5.1.9. Seguimiento medio.....	95
5.1.10. Ploidia.....	96
5.1.11. Ag NORs.....	96
5.1.12. Recidivas.....	97
5.2. FACTORES DE RECIDIVA.....	98

5.2.1. Edad.....	98
5.2.2. Sexo.....	98
5.2.3. Localización.....	98
5.2.3.1. <i>Recidiva</i>	98
5.2.3.2. <i>Grado</i>	100
5.2.3.3. <i>Histología</i>	102
5.2.3.4. <i>Ploidía</i>	104
5.2.3.5. <i>(Craneales-Raquídeos)- variables de ploidia</i>	105
5.2.3.6. <i>AgNORs</i>	106
5.2.4. Histología.....	107
5.2.4.1. <i>Recidiva</i>	107
5.2.4.2. <i>Grado</i>	109
5.2.4.3. <i>Ploidía</i>	111
5.2.4.4. <i>Necrosis</i>	115
5.2.4.5. <i>NORs</i>	116
5.2.5. Clínica.....	118

5.2.5.1. <i>Recidiva</i>	118
5.2.6. Cirugía.....	119
5.2.6.1. <i>Recidiva</i>	119
5.2.7. Necrosis.....	120
5.2.7.1. <i>Recidiva</i>	120
5.2.7.2. <i>Grado</i>	121
5.2.7.3. <i>Ploidia</i>	122
5.2.7.4. AgNORs.....	123
5.2.7.5. <i>Localización (craneales-raquídeos)</i>	123
5.2.8. <i>Grado</i>	124
5.2.8.1. <i>Recidiva</i>	124
5.2.8.2. <i>Ploidia</i>	125
5.2.9. <i>Ploidia</i>	126
5.2.9.1. <i>Recidiva</i>	126
5.2.9.2. <i>Variables de Ploidia-Recidiva (t-test)</i>	126
5.2.10. AgNOR.....	128

5.2.10.1. <i>Recidiva</i>	128
5.2.10.2. <i>Grado</i>	129
5.2.10.3 <i>Variables de Ploidia</i>	130
 5.3. RECIDIVAS: ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE TUMOR ORIGINAL Y TUMOR RECIDIVADO.....	 132
5.3.1. Histologia y ploidia.....	132
5.3.2. Variables de ploidia y AgNOR.....	132
 5.4. ANALISIS DEL RIESGO DE RECIDIVA EN EL TIEMPO	133
5.4.1. Global.....	133
5.4.2. Por grupos de localización.....	135
5.4.3. Por grados.....	138
5.4.4. Por indice de proliferación.....	140
 5.5. ANALISIS DE SUPERVIVENCIA.....	 142
5.5.1. Análisis de supervivencia por grados.....	142

5.5.2. Análisis de supervivencia por AgNORs....	144
5.6. RESUMEN DE RESULTADOS.....	146
6. <u>DISCUSION</u>.....	153
6.1. PATOLOGÍA Y GRADACION TUMORAL. EL PROBLEMA DE LA MALIGNIDAD EN LOS MENINGIOMAS.....	154
6.2. ESTUDIOS DE CINETICA TUMORAL.....	158
6.3. MENINGIOMAS Y RECIDIVA.....	172
6.4. LOCALIZACION: MENINGIOMAS CRANEALES VERSUS ESPINALES.....	177
7. <u>CONCLUSIONES</u>.....	182
8. <u>BIBLIOGRAFIA</u>.....	185

INTRODUCCION

1. INTRODUCCION

*"Que no us abranti gens
ni la velocitat,
minyons, ni el vol que vibra.
Quins assossegaments,
l'ombra, la claredat,
la flor i el llibre!"*

R. M. Rilke: Sonets a Orfeu

Efectuar un pronóstico seguro sobre la recidiva de los tumores ha sido uno de los objetivos más importantes de patólogos, clínicos y cirujanos implicados en el tratamiento del cáncer. Esta meta no se ha alcanzado totalmente en el momento actual, ya que existen muchos factores que influyen en el comportamiento tumoral.

En el caso de los meningiomas se acepta que la extensión de la resección quirúrgica es el factor pronóstico principal.

Los meningiomas son tumores considerados benignos, pero su extirpación total no evita la posibilidad de recidiva, hecho que se da entre un 9 y un 20% a los 10 años.

El estudio histológico clásico de los meningiomas distingue distintos tipos entre los que no se han hallado diferencias que sirvan para evaluar su comportamiento biológico. Así pues, la predicción de recidiva de los meningiomas por sus características clínicas o histopatológicas, se ha demostrado inadecuada.

Para distinguir qué tumores son los que poseen características biológicas proclives a la proliferación tumoral después de una extirpación "total", han surgido en los últimos años muchas técnicas de estudio, que complementando los datos histomorfométricos clásicos, han abierto un nuevo horizonte en el estudio del comportamiento biológico de los tumores. Dichas técnicas se basan fundamentalmente en la medición de la capacidad proliferativa de las células tumorales, mediante métodos de genética molecular (estudio del cariotipo), citocinética (citometría de flujo, BUdR, Ki-67) o en el estudio de la capacidad proliferativa de determinadas proteínas contenidas en el nucleolo (NOR).

Al revisar los meningiomas operados en el Hospital del Mar en los últimos 13 años, observamos que el estudio histopatológico solamente daba cuenta del tipo histológico del tumor, sin abundar en datos de posible agresividad celular. Nos encontramos que, en un porcentaje no desdeñable de casos, algunos tumores histológicamente "tranquilos", habían recidivado. Además los meningiomas craneales y raquídeos se comportaban de manera distinta.

Con el fin de aproximarnos a un pronóstico prospectivo de los meningiomas, decidimos realizar un estudio retrospectivo del material de archivo mediante estudio del DNA celular por citometría de flujo (CMF) y Organizadores Nucleolares (NORs).

Hemos contado con la inestimable colaboración del Servicio de Patología del Hospital Clínico para efectuar el estudio de las muestras mediante citometría de flujo, y con el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital del Mar para la gradación tumoral y determinación de los Organizadores Nucleolares.

FUNDAMENTOS

2. FUNDAMENTOS DE LA TESIS

*"Esta es una especulación sobre la
substancia, en que buscamos los principios
y las causas de las substancias."*

Aristóteles: Metafísica

2.1. RESEÑA HISTORICA ²⁹

La historia de los meningiomas es anterior a la neurocirugía contemporánea.

Félix Paster describió el tumor que ahora llamamos meningioma en 1614. Ciento sesenta años mas tarde, Louis publicó una serie de trabajos sobre la patología de "los tumores fungosos de la duramadre". En el siglo XVIII se intentó la extirpación quirúrgica, incluyendo un caso de Sir William Mac Ewen. En 1887, W.W. Keen describió por vez primera en EEUU la extirpación de un meningioma con éxito, pero fue Pechioli, en Siena, quien por primera vez, operó con éxito un meningioma. ¹¹⁵

En nuestro siglo, Harvey Cushing, trabajando en el hospital Peter Bent Brigham de Boston, decidió incluir con el nombre genérico de meningiomas distintos tipos patológicos de tumores de las meninges en colaboración con Louise Eisenhardt. Su compilación de 295 casos ha sido una de las mayores contribuciones a la Neurocirugía.

2.2. GENERALIDADES DE LOS MENINGIOMAS

Los meningiomas son los tumores de origen no glial más frecuentes del SNC y constituyen entre un 13 y un 24 % de los tumores intracraneales ^{83, 122, 141, 388} y un 25 % de las neoplasias espinales ^{137, 334}. Predominan en el sexo femenino en una proporción de 2 a 1, de una manera casi constante en todas las series. ^{179, 309} Son neoplasias del adulto con una mayor incidencia entre la 4ª y 7ª décadas de la vida. Representan menos del 2% de los tumores primarios intracraneales de la infancia y adolescencia. Cuando afectan a los niños tienden a tener elementos sarcomatosos. ^{16, 17}

La distribución de los meningiomas es paralela a la de los *villi aracnoideos*. De los meningiomas intracraneales el 90% son supratentoriales y el 10% infratentoriales. Los *villi aracnoideos* espinales se encuentran a la salida de las raíces siendo éste el sitio de nacimiento de los meningiomas. ⁶² Los meningiomas raquídeos se distribuyen por igual a lo largo del raquis, predominando en la región dorsal. ²⁰³

En general son tumores benignos, bien encapsulados, intradurales-extraparenquimatosos, aunque en el raquis existe un porcentaje significativo (7%) de meningiomas extradurales. ^{50, 203, 229} En general, los meningiomas con extensión extradural, también tienen un componente intradural, suelen ser invasivos ^{96, 203} y su curso clínico es más rápido. ²⁰³

2.3. PATOGENESIS DE LOS MENINGIOMAS

Los meningiomas se originan en las células aracnoideas ("arachnoid cap cells") que son células especializadas de las granulaciones aracnoideas ^{82,179,272,372} (Fig. F-1). Ya John Cleland, en 1864 ⁶⁴ publicó un trabajo sobre el hallazgo de dos tumores de la superficie interna de la duramadre y en su examen los llamó "tumores vellosos de la aracnoides" sospechando que se originaban en los corpúsculos de Pachioni. Cincuenta años mas tarde, Cushing y Weed confirmaron dicha hipótesis ⁸² (Fig. F-2).

Fig. F-2. Dibujo de John Cleland de un meningioma.

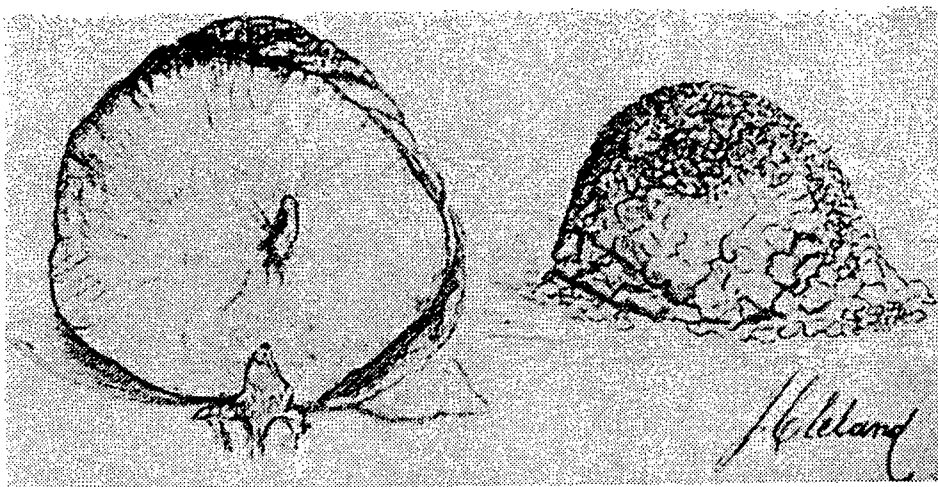
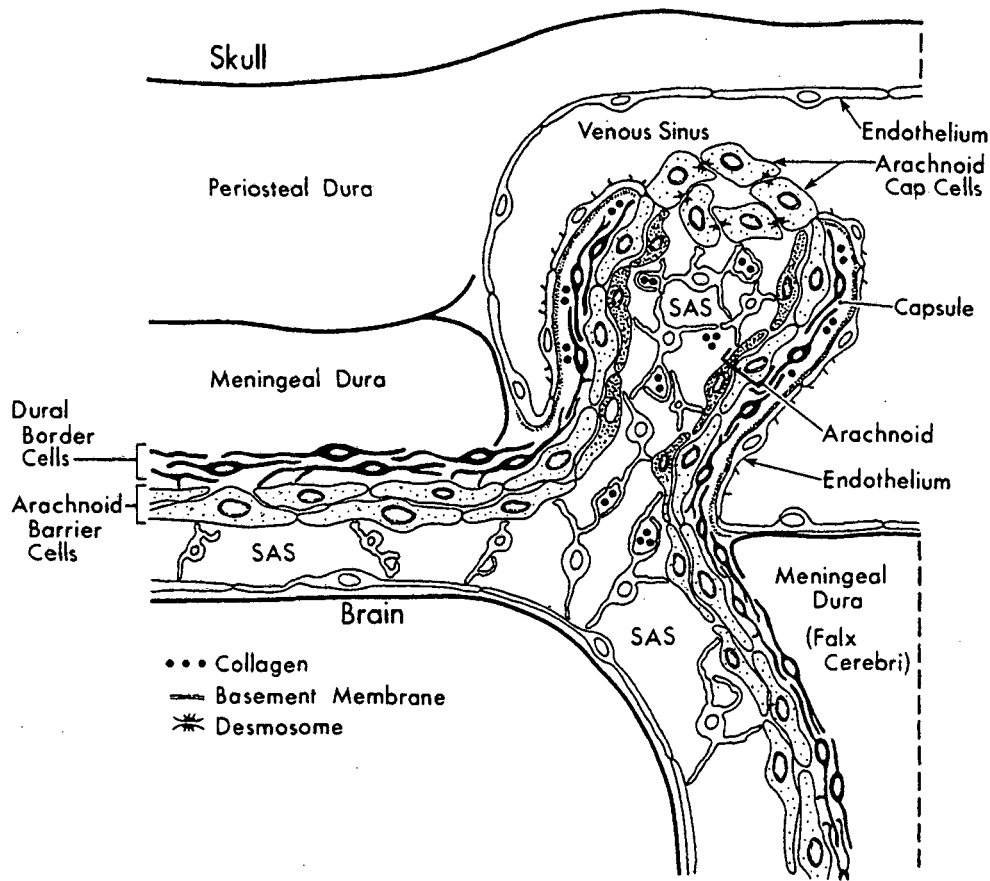


Figura. F-1. Representación de una granulación aracnoidea.



El principal argumento a favor del origen aracnoideo de los meningiomas es que las células aracnoideas especializadas se encuentran fundamentalmente en los lugares de formación de los meningiomas. Sin embargo, no está del todo claro que sean las células aracnoideas las únicas que puedan dar origen a los meningiomas (Figs. F-3 y F-4).

Figura F-3. Vista de la cara interna de la base craneal. El punteado representa la distribución de las células aracnoideas. La implantación del tentorio del cerebelo está marcada por el área sombreada.

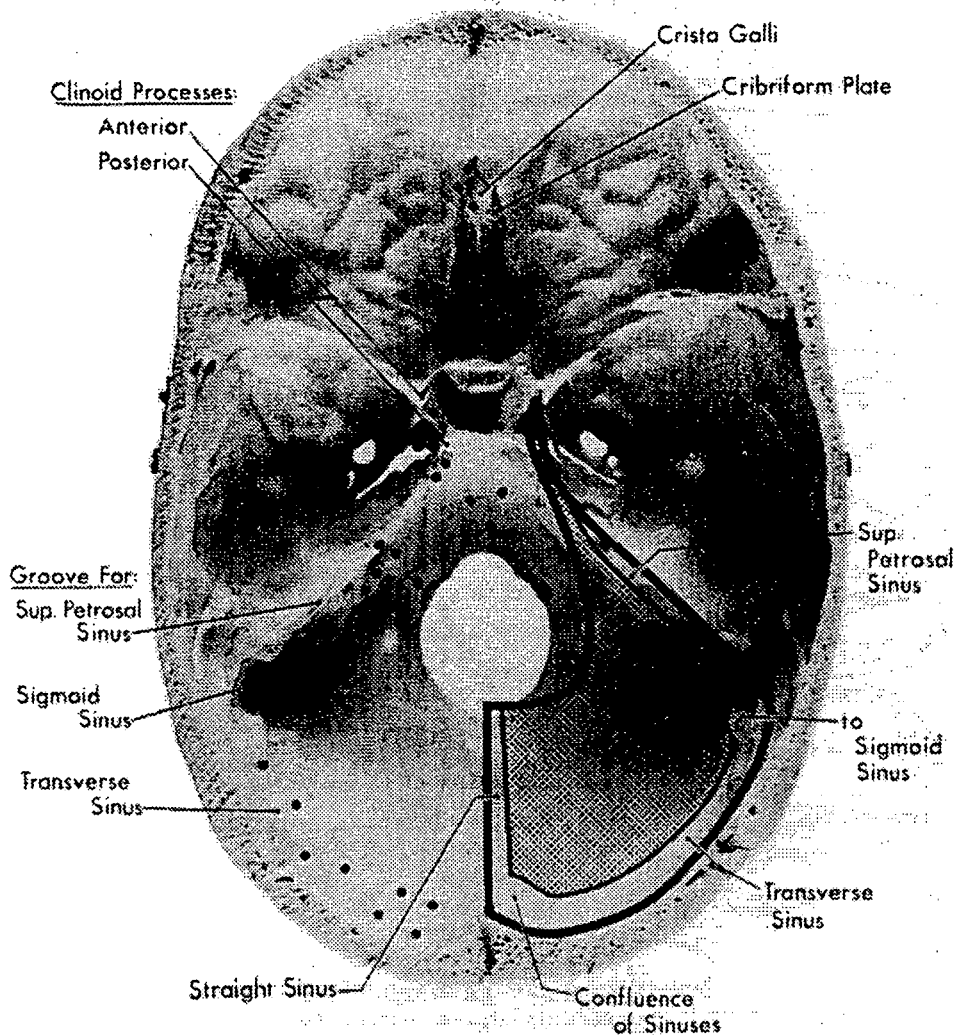
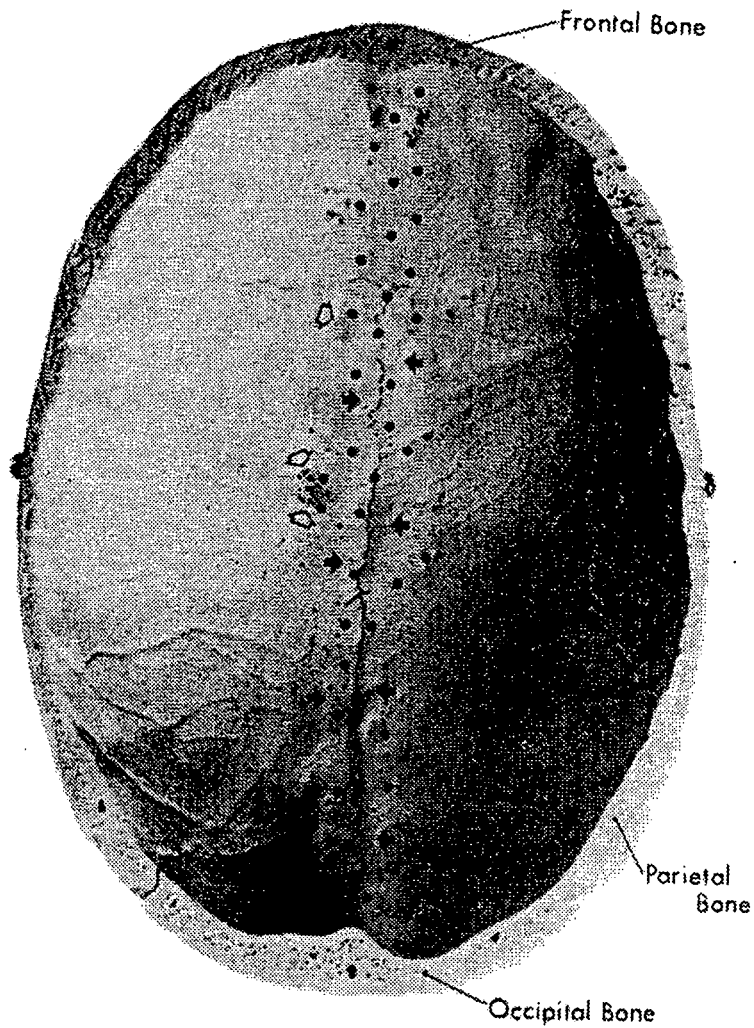
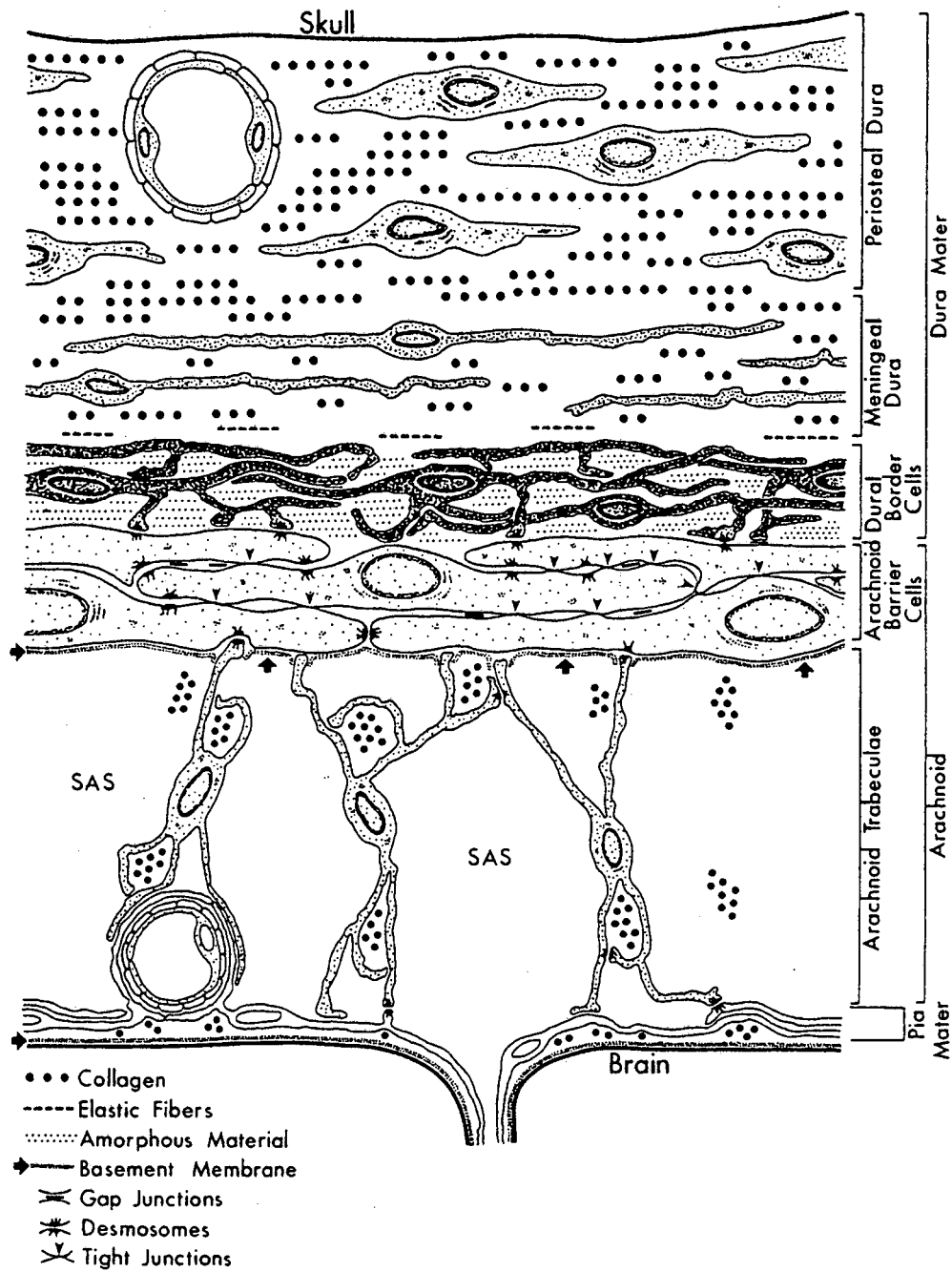


Figura F-4. cara interna de la bóveda craneal con la representación gráfica de la distribución de las células aracnoideas (punteado). Las flechas negras señalan la confluencia del seno longitudinal superior y la hoz cerebral. Las flechas abiertas apuntan a las improntas óseas de las granulaciones aracnoideas más prominentes.



Según Schachenmayr y Friede la membrana externa de la aracnoides se fusiona con la superficie interna de la duramadre y en esta interfase hay dos tipos de células que pueden ser el origen de los meningiomas.³¹⁸ Estas células, fibroblastos modificados, forman la llamada *dural border cell layer* y poseen unas características especiales que las diferencia de las otras capas de células (Fig. F-5). Además se considera que las meninges derivan tanto del mesodermo como de la cresta neural.^{264,272} Esta complejidad embrionaria puede impartir múltiples propiedades funcionales a las células meningoteliomatosas, lo que explicaría su diversidad histológica. De todas maneras, esta controversia parece irrelevante en cuanto al diagnóstico y tratamiento.⁶² No obstante, el trabajo de O'Rahilly da como probable origen de las meninges craneales y espinales fuentes embriológicas distintas que pueden influir en su distinto comportamiento biológico.²⁷²

Figura F-5. Representación de las meninges cerebrales con la citoarquitectura de las diferentes capas.



2.4.HISTOPATOLOGIA DE LOS MENINGIOMAS

2.4.1. Clasificación

Se han propuesto distintos esquemas para clasificar los meningiomas. Cushing y Eisenhardt los clasificaron en mesenquimatoso, angioblástico, meningotelial, psammomatoso, osteoblástico, condroblástico, fibroblástico, melanoblástico y lipomatoso.⁸³ Russell y Rubinstein clasificaron a los meningiomas en cuatro tipos histológicos: meningotelial (sincitial), transicional, fibroblástico y angioblástico.³⁰⁹

La clasificación de la OMS³⁸⁷ según el tipo celular predominante (Tabla F.I), es anterior al desarrollo de los estudios ultraestructurales, citogenéticos y citocinéticos, por lo que diversos autores han modificado este esquema,^{171,179,180,319} haciendo posible que lesiones no-meningoteliales y otras lesiones mesenquimatosas, con histogénesis imprecisa quedasen clasificados aparte (Tabla F.II).

Tabla F.I. . Tumores de las meninges y tejidos relacionados según clasificación de la OMS (Zulch 1979).

A. Meningiomas

1. Meningotelial (Sincitial)
2. Fibroblástico
3. Transicional
4. Psamomatoso
5. Angiomatoso
6. Hemangioblástico
7. Hemangiopericítico
8. Papilar
9. Anaplásico (maligno)

B. Sarcomas menígeos

1. Fibrosarcoma
2. Sarcoma polimórfico
3. Sarcomatosis meníngea primaria

C. Tumores xantomatosos

1. Fibroxantoma
2. Xantosarcoma (Fibroxantoma maligno)

D. Tumores melanóticos primarios

1. Melanoma
2. Melanomatosis meníngea

E. Otros

Tabla F.II. Tumores de las meninges y tejidos afines. Clasificación modificada de la OMS (Scheithauer 1990).

A. Meningiomas (Tumores derivados de las células aracnoideas)	
Meningioma Benigno	
1.	Meningotelial (Sincitial)
2.	Fibroblástico
3.	Transicional (patrón mixto del 1 y 2)
4.	Psamomatoso
5.	Angiomatoso
6.	Secretor
7.	Microquístico
8.	De células claras (rico en glucógeno)
9.	Linfoplasmocitario
10.	Cordoide
11.	Variantes metaplásicas: xantomatoso, condroblástico, osteoblástico, lipoblástico, mixoide, etc.
Meningioma Atípico : variantes del benigno, con atipias	
Meningioma Maligno	
1.	Variantes anaplásicas de los benignos
2.	Meningioma papilar
B. Tumores mesenquimatosos (no meningoteliales)	
Benignos:	1. Histiocitoma fibroso
	2. Condroma, osteocondroma, osteoma
	3. Hemangioma cavernoso
	4. Lipoma
	5. Mixoma
Malignos:	1. Hemangiopericitoma (antes meningioma angioblástico)
	2. Fibrosarcoma (histiocitoma fibroso maligno)
	3. Condrosarcoma mesenquimatoso
	4. Leiomiosarcoma
	5. Angiosarcoma
C. Neoplasias primarias melanocíticas	
1.	Melanosis / Nevus melanocítico
2.	Melanocitoma (antes "meningioma pigmentado")
3.	Melanoma maligno
4.	Melanomatosis meníngea
D. Neoplasias hemopoyéticas	
1.	Plasmocitoma
2.	Linfoma
3.	Sarcoma granulocítico
E. Tumores de naturaleza incierta	
1.	Hemangioblastoma

2.4.2. Meningiomas: Rasgos histológicos.

Los tipos meningotelial, fibroblástico y transicional reflejan las variantes más frecuentes. Los tumores con características epiteliales predominantes incluyen el meningotelial, microquístico, secretor y los meningiomas ricos en glucógeno, mientras que el extremo mesenquimatoso del espectro incluye el meningioma fibroblástico y la mayoría de variantes metaplásicas.³¹⁹ El transicional, siendo estructuralmente bifásico, sirve de unión entre los dos grupos. Todos los meningiomas pueden contener calcoferitos, a veces en gran cantidad, constituyendo los tumores psamomatosos, los cuales tienen especial proclividad para el raquis y la órbita. No hay unanimidad para designar qué cantidad de cuerpos de psamoma debe contener un tumor para que pueda llamarse psamomatoso.

Meningioma secretor

Es una forma poco frecuente, que posee metaplasia glandular. La especialización de sus estructuras glandulares está demostrada por análisis ultraestructural y por el hallazgo de queratina, la positividad del antígeno carcinoembrionario (CEA)⁵ y componente glandular.⁴¹

El meningioma secretor posee numerosas inclusiones hialinas llamadas "cuerpos de pseudopsamoma"¹⁷⁶ para distinguirlos de los cuerpos de psamoma, los cuales se forman por hialinización o calcificación de las espirales meningoteliales y de los vasos sanguíneos. Más tarde, mediante estudios ultraestructurales ^{178,193}

se demostró que los cuerpos de pseudopsamoma eran glucoproteínas secretadas por las células meningoteliales.

Completado el estudio con análisis inmunohistoquímico, se concluyó que el meningioma secretor también representaba una diferenciación epitelial de las células meningoteliales. 206,256, 357

Puede confundirse con el carcinoma metastásico, pero el hallazgo de estructuras meningoteliales en el tumor facilita el diagnóstico. Los meningiomas secretores tienen un curso clínico indolente, pero suelen asociarse a edema peritumoral. 57,319,351

Meningioma microquístico (Meningioma húmedo)

Es una forma peculiar de meningioma, relativamente de reciente categorización.^{238,257} No tiene predilección de sexos. Los quistes normalmente no se ven macroscópicamente. El examen con microscopio electrónico demuestra su origen meningotelial y que los espacios quísticos corresponden a regiones acelulares. 185

Meningioma angiomatoso

Generalmente se trata de un meningioma meningotelial, diferenciándose del hemangioblastoma por su abundante vascularización de vasos bien diferenciados, sinusoidales o capilares, que pueden llegar a enmascarar el componente meningotelial. La profusión de vasos se considera como un índice de potencial agresividad, sin embargo la mayoría de vasos del meningioma angiomatoso tiene las paredes hialinizadas reminiscente de los hemangioblastomas o del hemangioma esclerosante, ambos de naturaleza benigna.

Meningioma papilar

Un patrón papilar en los meningiomas fue descrito por Cushing y Eisenhardt por primera vez,⁸³ y más recientemente se asoció a un comportamiento agresivo.²⁰⁸ Dicho patrón puede darse en los meningiomas clásicos pero es mas propio de los hemangiopericitomas. Pasquier revisó 46 meningiomas papilares de la literatura, y aportó siete casos propios con conducta agresiva y los consideró una forma intermedia entre los meningiomas clásicos (meningotelial y fibroblástico) y los hemangiopericitomas;²⁸⁰ eran invasivos en un 75%, el 55% recidivaron y metastatizaron un 20%.

Hemangiopericitoma

Los primeros en acuñar el término de hemangiopericitoma fueron Stout y Murray,³⁴¹ aunque ya en 1928, Bailey los incluía en los meningiomas angioblásticos.¹⁵ De los meningiomas angioblásticos de Cushing y Eisenhardt, el hemangiopericitoma correspondería al tipo 1 de la variante IV,⁸³ y los tipos 3 y 2 corresponderían respectivamente al hemangioblastoma (idéntico histológicamente al hemangioblastoma de cerebelo), y formas transicionales entre el meningioma típico y el hemangioblastoma. Así pues, primero Cushing y Eisenhardt,⁸³ después Russell y Rubinstein³⁰⁸ y Müller²⁴⁷ los consideraban dentro de los meningiomas angioblásticos. Kernohan los incluyó en los sarcomas cerebrales¹⁸¹ y Popoff,²⁹³ con estudio ultraestructural, piensa que los tipos angioblásticos de Cushing y Eisenhardt deben excluirse de los meningiomas.

La controversia sobre si el hemangiopericitoma es un tipo de meningioma o debe considerarse una entidad distinta, no está aún resuelta. Hay estudios que apoyan ambos puntos de vista.

Se han demostrado formas transicionales entre los meningiomas clásicos (meningotelial y fibroblástico) y los hemangiopericitomas.^{142,247,287} Horten postula la existencia de formas intermedias entre los meningiomas clásicos y los hemangiopericitomas en base a la existencia de solapamiento estructural en la microscopía electrónica y mediante cultivos tisulares, invocando un origen común de las células mesenquimales poliblasticas de las meninges. Otros autores, basándose en estudios ultraestructurales e inmunohistoquímicos^{161, 246, 371} lo consideran una entidad distinta al meningioma.^{43, 84, 86,173, 283, 284, 293, 325, 343} Jääskeläinen¹⁶³ en su trabajo sobre 21 casos cree que los hemangiopericitomas de las meninges, aunque macroscópicamente puedan parecer idénticos a los meningiomas, son distintos histológicamente y su comportamiento biológico es mas agresivo; pueden metastatizar, son muy vascularizados y recidivan con mucha frecuencia, en lo que concuerdan otros autores.^{65,118,126,128,161,237,275} Schroder defiende la diferenciación de los hemangiopericitomas de los meningiomas en base a datos clínicos (predominio en el hombre, distribución por edades distinta, posibilidad de metástasis, casi nunca son múltiples), aunque estos hallazgos pueden verse también en los meningiomas malignos⁶ e incluso hay casos aportados de metástasis en los meningiomas benignos.^{180, 240} La incidencia de los hemangiopericitomas, al igual que en los meningiomas malignos, se iguala en los dos sexos. Se ha demostrado también que los hemangiopericitomas no tienen receptores progesterónicos, a diferencia de los meningiomas clásicos.²²²

Iwaki¹⁶¹ compara los resultados inmunohistoquímicos de 12 hemangiopericitomas de las meninges, tres hemangiopericitomas de otras localizaciones y 35 meningiomas clásicos y mientras en

éstos el antígeno epitelial de membrana (CEA) fue positivo en la mayoría, en todos los hemangiopericitomas fue negativo, concluyendo que el hemangiopericitoma se compone de células pobremente diferenciadas que pueden originarse de las células mesenquimales perivasculares de las meninges pero no de las células aracnoideas, llegando a la misma conclusión que otros autores. 251

El trabajo de Kabus¹⁷³ parece ser definitivo, analizando dos casos de metástasis de un meningioma angioblástico y un hemangiopericitoma de las meninges, encontrando datos en la microscopia electrónica y en la inmunohistoquímica que los diferencia claramente.

2.4.3. Meningiomas malignos.

Los meningiomas siempre han sido considerados como tumores benignos, pero hay casos que poseen un comportamiento biológico agresivo, con recidivas frecuentes, anaplasia y posibilidad de metastatizar.^{177,293,348,386} La frecuencia de las metástasis extracraneales varía según los autores: 0.1%,¹⁷⁰ 5%,⁶ Thomas describe 3 metástasis sobre 7 casos,³⁴⁸ Jääskeläinen aporta una tasa del 11%¹⁶³ y el 25% Younis.³⁷⁷

Thomas y col.³⁴⁸ definieron en su estudio una serie de características histológicas de malignidad: pequeños focos de necrosis,⁸⁰ distribución celular en empalizadas y presencia de frecuentes mitosis. No hallaron en ninguno de sus casos el patrón papilar de otros autores^{6,177,208,354} y concluyeron que deben existir otros factores, aparte de los histológicos, que influyen en el comportamiento tumoral.

Entre las características propias de una mayor agresividad se incluirían el patrón hemangiopericítico, el patrón papilar, la existencia de necrosis y la invasión del parénquima cerebral^{170, 208} y la presencia de mitosis atípicas.¹⁰¹ Inohue¹⁵⁵ aplica una escala pronóstica, hallando que el pronóstico es bueno en los papilares, mediano en los hemangiopericíticos y malo en los anaplásicos (en éstos, seis de diez casos procedían de meningiomas benignos). Skullerud³³⁴ estudió el pronóstico de 161 meningiomas sobre bases histológicas, hallando la "hipercelularidad" como único factor significativo de recidiva; en su trabajo excluye los meningiomas

anaplásicos y en cambio engloba a los hemangiopericitomas (entonces llamados angioblásticos).

Así pues, la diferenciación entre meningiomas benignos y malignos no quedaba clara en base solo a estudios morfológicos. Ni los análisis ultraestructurales,⁵⁶ ni los cultivos tisulares,¹⁸⁸ dieron resultados concluyentes para diferenciar los meningiomas malignos. Se hicieron nuevos esfuerzos, en algunos casos reconsiderando parámetros ya enunciados, como por ejemplo la existencia de necrosis y abundantes mitosis ó la invasión del parénquima nervioso como factor primordial del meningioma maligno.^{218,369} En una revisión muy reciente,³⁷⁷ que incluye meningiomas atípicos, malignos, sarcomatosos y hemangiopericíticos, ni los hemangiopericitomas ni los sarcomas invadían el parénquima y aunque la necrosis era frecuente, no se encontró en los hemangiopericitomas.

Se intentaron clasificar los meningiomas según una escala diagnóstica de potencial malignidad basándose en criterios microscópicos de anaplasia (mitosis, infiltración tisular, hipercelularidad, atipia, polimorfismo, etc). Sin embargo, esta escala no fue unánimemente adoptada, al no hallarse correlación entre la predicción de recidivas y los hallazgos morfológicos.^{42,80} De la Monte revisó 82 meningiomas hallando siete características histológicas que sí tenían correlación con la recidiva: (1) hipervascularización, (2) depósitos de hemosiderina, (3) pérdida de la arquitectura, (4) aumento de las mitosis, (5) necrosis, (6) nucleólos prominentes y (7) pleomorfismo nuclear; sin embargo se trataba de un estudio basado en el supuesto de una extirpación subtotal.⁸⁹

La línea adoptada por la OMS,¹⁸⁴ según seis criterios histológicos, ha sido seguida en trabajos recientes por distintos autores.^{211,302,356} Mahmood ha ampliado los criterios de la OMS, clasificando los meningiomas en tres grados: benigno, atípico y anaplásico. Los seis criterios morfológicos usados han sido: (1) polimorfismo, (2) hiper celularidad, (3) índice mitótico, (4) necrosis, (5) pérdida de la arquitectura e (6) invasión cerebral.

El desarrollo de estudios citogenéticos y citocinéticos aportaron nuevos parámetros que ayudaron a predecir el comportamiento de los meningiomas.^{24,242, 380}

Una de las características de los meningiomas malignos es que la relación en cuanto a sexos se iguala ó incluso se invierte, predominando en el sexo masculino; ^{6,164,211,369} representarían entre el 1-11% de todos los meningiomas. ^{101, 164, 170, 210, 354,369, 386}

Otros autores ^{6,219,255,360} creen que el comportamiento agresivo de los meningiomas puede predecirse por una serie de características radiológicas en el TC: aspecto de "mushrooming",²⁵⁵ infiltración ósea, presencia de edema,³⁶⁰ aspecto desflecado y presencia de áreas hipodensas intratumorales. ⁶

Se han realizado estudios inmunocitoquímicos con anticuerpos monoclonales para los macrófagos y linfocitos, hallando que la mayoría de meningiomas poseen infiltrados de macrófagos³⁷³ y linfocitos CD8 pero que éstos se encuentran en mayor abundancia en los meningiomas atípicos, pudiendo representar una respuesta inmunitaria exagerada del huésped ante la existencia de una mayor agresividad tumoral.³⁰³ Otro trabajo mediante estudio de

inmunomarcaje para distintas moléculas de expresión, no se relacionó con la posibilidad de recidivas. 11

2.5. MENINGIOMAS Y RECIDIVA

La mayoría de los meningiomas son tumores benignos curables después de su extirpación total, constituyendo ésta el factor pronóstico mas importante.^{126,170,180,241,254,332} Sin embargo, aún cuando la extirpación haya sido completa y el estudio histológico no muestre datos sospechosos, hay casos que recidivan.

Otro factor que influye en la recidiva es la localización del tumor; es bien conocido que, por ejemplo, la extirpación total de los tumores del seno cavernoso o extensos tumores de la base del cráneo es prácticamente imposible, siendo lógico que los restos tumorales crezcan. Creemos que ésto no debería considerarse como recidiva sino como crecimiento tumoral tras una extirpación subtotal.

Ya hemos visto que ciertos patrones histológicos son bien reconocidos como proclives a un comportamiento biológico agresivo y por tanto a la recidiva, pero la realidad es que la mayoría de meningiomas que recidivan no los poseen. Existe, pues, una discrepancia entre los hallazgos histológicos benignos y la conducta biológica agresiva de algunos meningiomas. De los meningiomas considerados clásicos, Crompton y Gautier-Smith⁸⁰ encuentran que los meningoteliales y fibroblásticos muestran mayor tasa de recidiva, y para Christensen, las recidivas son más frecuentes en los varones, en los jóvenes y en los tumores parasagitales. 63

En la literatura, la frecuencia de las recidivas varía considerablemente: 11-21%,³³² 10-19%,³⁴⁹ 20%,⁸⁰ 6,3%,¹²⁵ 13%,¹⁷⁰ 25%,³³³ 17.2%,² 19.3%.²⁴¹ Tales diferencias pueden explicarse por la gran variabilidad del seguimiento; a mayor seguimiento, mayor fiabilidad. Jääskeläinen estudió la velocidad de crecimiento de los meningiomas hallando que el tiempo que el tumor necesita para doblar su volumen varía entre 50 y 500 días; esta gran variabilidad explica la posibilidad de recidivas tardías.¹⁶²

La cuestión de si la recidiva se origina del tumor intervenido o de un nuevo foco neoplásico no está resuelta.^{35,36,83,349} Borovich y col. demostraron en el 100% de los casos estudiados, agregados celulares meningoteliales en los márgenes duros de donde había nacido el meningioma. Esto sugiere que los meningiomas solo representan el crecimiento más visible en medio de un campo abonado para la neoplasia en un margen amplio de duramadre y explicaría las "recidivas" inesperadas en los tumores resecados totalmente y con un patrón histológico benigno. Sobre todo en meningiomas del grado I de extirpación de Simpson, no se trataría de verdaderas recidivas sino de la expresión del crecimiento de un nuevo meningioma.³⁶⁹ La pregunta que se nos plantea de ¿cuáles son los factores que causan la aceleración del crecimiento de estos agregados?³³² no está plenamente resuelta.

Distintos autores^{32,241,285} creen que el tiempo entre las recidivas sucesivas es cada vez más corto. Ello podría deberse a restos tumorales que no fueron extirpados, a estimulación del crecimiento tumoral por la propia intervención o a dediferenciación tumoral en las recidivas sucesivas.²⁸⁶ La estimulación del crecimiento tumoral por efecto del acto quirúrgico, entroncaría con el concepto

de la restricción nutricional o la del contacto intercelular, factores ambos que limitarían el crecimiento celular.³³ En estas circunstancias de hiperpresión y restricción nutricional, las células podrían entrar en fase de reposo (fase G0); una vez "liberadas" por la citorreducción de la intervención entrarían de nuevo en fase de proliferación.

De toda manera se apuntan otros factores en relación a la progresión tumoral, ya enunciados por Bookwalter³³ sobre la base de otros trabajos²⁶² tales como la existencia de una labilidad genética que ocasionaría subpoblaciones celulares más agresivas. Hay autores³⁶⁹ que aportan casos recidivados de tumores benignos que se habían malignizado.

Hay estudios que correlacionan la recidiva con alteraciones cromosómicas¹⁰ o con la ausencia de receptores progesterónicos.¹⁹⁰

2.6. CITOGENETICA Y BIOLOGIA MOLECULAR.

2.6.1. Citogenética.

Los estudios cromosómicos, de genética molecular y de receptores tumorales han ayudado a la comprensión de la patogénesis de los meningiomas.

La tumorigénesis está asociada a la pérdida del equilibrio que existe entre los proto-oncogenes y los genes supresores tumorales.²⁷ Los proto-oncogenes se relacionan con los mecanismos de transducción y con el control de la proliferación y diferenciación celular, mientras que las funciones de los genes supresores tumorales estarían relacionadas con el control negativo de la proliferación celular y con las interacciones intercelulares.^{1,226} Las alteraciones estructurales o funcionales en los proto-oncogenes y la pérdida de función del gen supresor tumoral estaría asociado con la tumorigénesis y se manifestaría como una disregulación del control de crecimiento celular. El crecimiento celular normal se regula por los factores de crecimiento y por los proto-oncogenes que responden a estos factores de crecimiento.

Los proto-oncogenes son genes reguladores del crecimiento representados en las células normales durante su desarrollo y crecimiento. Funcionalmente se han clasificado en tres amplias categorías: 1) factores de crecimiento y sus receptores; 2) componentes de la vías de transducción intracelular y 3) reguladores de la expresión genética.⁹¹

La pérdida de genes de algún cromosoma jugaría un papel en la tumorigénesis de ciertos tumores. Este tipo de oncogénesis fue demostrado por vez primera en el retinoblastoma y en el tumor de Wilm's.²⁶⁸ Entre el 40%²⁹⁶ y el 72%¹⁰ de los meningiomas se da la monosomía del cromosoma 22 y es frecuente también la pérdida de una parte del brazo largo de este cromosoma.³⁸¹ En el caso concreto de los meningiomas muchos investigadores^{95,235,299} creen que su crecimiento resulta de la pérdida de DNA que formaría el "gen supresor tumoral", representado en el cromosoma 22, cuya función es inhibir el crecimiento celular anormal.

Otra explicación, representada por Knudson¹⁸⁶ es la existencia de oncogenes recesivos capaces de inducir el fenotipo neoplásico cuando hay pérdida de material genético de algún cromosoma. Cuando las dos copias de cada cromosoma se mantienen intactas, la presencia del alelo dominante normal evita que el oncogen recesivo se exprese. Pero si la pérdida de genes del cromosoma incluye al alelo dominante, entonces el oncogen recesivo puede actuar y la célula puede transformarse.

Este mecanismo de formación de los meningiomas es más fácil que ocurra en los pacientes con Neurofibromatosis, ya que es probable que la existencia del oncogen recesivo sea heredada, pero en los casos esporádicos, por otra parte la mayoría, se necesitarían dos mutaciones para la formación de los meningiomas: (1) la formación del oncogen recesivo y (2) la pérdida del alelo dominante. Collins,⁶⁸ en cultivos celulares, confirma la monosomía 22 de los meningiomas, y mediante técnicas de genética molecular en tejido tumoral primario, sugiere que los genes involucrados en la Neurofibromatosis tipo 2 y en los meningiomas se localizan en

puntos distintos del brazo largo del cromosoma 22 y son, por tanto, entidades distintas.

Por otra parte Bello y col., mediante análisis de genética molecular de los meningiomas hiperdiploides ó pseudodiploides, encuentran que se conserva la heterozigosidad del cromosoma 22 sugiriendo un mecanismo distinto a la monosomía 22 para el desarrollo de los meningiomas, quizás cambios submicroscópicos (microsupresiones o mutaciones).²² Se han aportado alteraciones en el cromosoma 1p como causa de progresión en los meningiomas.²³

Seizinger no halló correlación entre la pérdida de DNA del cromosoma 22 y el subtipo histológico o el curso clínico de los meningiomas.³²⁷ Sin embargo, Vagner-Capodano³⁵⁶ estudiaron la correlación citogenética con los datos histopatológicos en 75 meningiomas, hallando relación entre las aberraciones cromosómicas y los tumores más atípicos al igual que otros,^{10,24} mientras que los tumores benignos tendrían un cariotipo normal o solo monosomía 22. Para otros autores,^{133,281} las asociaciones teloméricas son características de las células malignas y se sugiere que la malignización de los meningiomas comporta un cambio hacia un estado hiperdiploide.⁵⁵

2.6.2. Citocinética

2.6.2.1. Crecimiento tumoral ⁴⁸

Los tumores crecen por expansión, infiltración o por ambos mecanismos. Expansión es el crecimiento alrededor de un núcleo central. El tejido adyacente puede comprimirse o destruirse. Los crecimientos por expansión tienden a ser esféricos a menos que el tumor se altere por presiones externas, y son a expensas de la proliferación celular más que del crecimiento celular. Además, el volumen tumoral aumenta por acumulación de líquido secundaria a hemorragias, aumento de la permeabilidad vascular o edema.

Los meningiomas, por regla general no infiltran, crecen por expansión y se rodean de cápsulas de tejido conectivo. La "infiltración" es la invasión por el tumor del tejido adyacente. Se relacionaría al menos con 5 características de las células tumorales: proliferación ó multiplicación progresiva, motilidad, poder fagocitario, elaboración de sustancias líticas ó tóxicas y pérdida del control del crecimiento por parte de los tejidos vecinos.

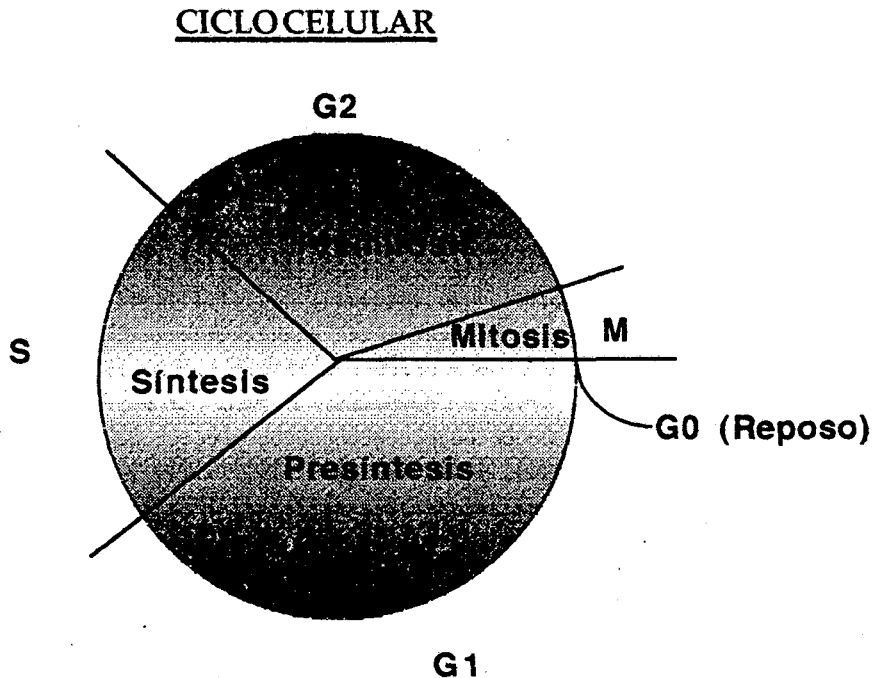
El crecimiento tumoral dependería de tres funciones, derivadas del ciclo celular: el tiempo del ciclo celular, la fracción de crecimiento y la pérdida celular. El tiempo entre dos mitosis es el *tiempo del ciclo celular* (cuanto más corto es, significa que más rápido crecen las células). La *fracción de crecimiento* se refiere a la cantidad de células que están en el ciclo (cuanto mayor sea éste, más rápido aumentará el número de células). La tasa de *muerte celular* representa las células que mueren o emigran a otros tejidos.

El crecimiento de las células, tanto normales como neoplásicas, implica un aumento del número de células, como resultado del predominio de las células que nacen sobre las que mueren.

2.6.2.2. *Ciclo celular*

En el ciclo celular, después de la fase M (mitosis), las células hijas entran en la fase G₁ permaneciendo allí un tiempo variable, que depende del tipo tisular (cuanto más larga sea la fase G₁, indica un lento crecimiento celular); en la fase G₁ las células dejan de proliferar; después de un cierto número de mitosis, las células se diferencian y salen del ciclo celular llegando a morir, o entran en la fase G₀ (reposo), desde la cual pueden más tarde volver a entrar en el ciclo dependiendo de distintos estímulos. Tras la fase G₁, viene la fase S (síntesis) donde se dobla el material genético celular durante la síntesis del DNA. Después de esto hay una segunda fase G₂ antes de que las células vuelvan a dividirse (Fig F-6).

Fig. F-6. Fases del ciclo celular. Las células que se dividen van de una fase de mitosis (M) a la otra. las células que no se dividen, dejan el ciclo y están destinadas a morir. Las células en reposo (G0) ni se dividen ni mueren, y pueden volver a entrar en el ciclo celular mediante estímulos apropiados.



Se han demostrado muchas reacciones bioquímicas específicas del ciclo celular y que parece ocurrirían solamente en las células en proliferación.²⁷⁸ Durante la fase S hay numerosos enzimas relacionados exclusivamente con la síntesis del DNA y que aumentan su actividad durante la fase S, entre los que se cuentan la polimerasa DNA, la timidin-kinasa y la ribonucleótido reductasa. El proceso de división celular fue analizado en el pasado observando figuras de mitosis y estudiando las células en cultivos tisulares. La radioautografía de células marcadas con la timidina mejoró estos métodos. Para que una célula se divida debe aumentar de masa, y un buen indicador de la masa celular es la cantidad de RNA por célula. Gracias a estudios microfluorométricos se conoce

que las células en el ciclo celular, no solo sintetizan DNA sino que doblan su masa, demostrándose que pueden haber muchos procesos bioquímicos involucrados.^{20,87} En el crecimiento tumoral predomina el aumento del número de células sobre el aumento del tamaño. Lo importante es el crecimiento de células individuales durante el ciclo celular y la necesidad de que las células en fase G₁ doblen su contenido celular (su masa) antes de la nueva división.

En el crecimiento de las células tumorales están involucrados los mismos factores cinéticos que en las células normales. Las poblaciones celulares normales y neoplásicas difieren en el número y tipo de células que proliferan en un tiempo determinado y no necesariamente las tumorales crecen más rápido que las normales.

Una explicación del por qué los tumores crecen y los tejidos normales no, depende de dos características del crecimiento: la *fracción de crecimiento* (células dentro del ciclo celular) y la *pérdida celular*.⁴⁰ La determinación real del crecimiento se determina por la diferencia entre el número de células producidas por unidad de tiempo y el número de células que mueren por unidad de tiempo. Vemos que el crecimiento de un tejido no es solamente función de las mitosis o del tiempo del ciclo celular, pues hay células normales (por ej. las células del intestino delgado) con un índice mitótico más elevado que el de tumores de rápido crecimiento, o que el ciclo celular de algunos tumores es más largo que el de las células normales.

La epidermis, las células sanguíneas y las células del tracto digestivo están en continua renovación con mitosis abundantes, pero existe equilibrio entre la pérdida celular y la ganancia. En los tumores, hay un gran número de células que mueren espontáneamente a diario

(aproximadamente el 48%),³⁵² pero el tumor continúa creciendo porque es mayor el número de células que genera que el que se muere. Es decir, la piedra de toque que nos indica realmente el crecimiento tisular es el predominio de células producidas sobre las células perdidas. Se ha visto, con frecuencia, que en las células tumorales las fases S y G₂ son mas largas.¹⁹

Se han usado distintos términos para describir el potencial proliferativo de las células neoplásicas. El "cell generation time" es el tiempo entre dos divisiones celulares sucesivas. El "tumor doubling time" es el período en que el tumor dobla su tamaño ó el número de células. 21,61,85,162 Estos tiempos solo son iguales cuando las células de una población dada proliferan uniformemente sin pérdidas celulares. Estas condiciones no se cumplen por distintas razones:

- 1.- hay células que pueden estar en un estadio no proliferativo.
- 2.- existencia de porciones tumorales necróticas ó quísticas.
- 3.- el tamaño tumoral puede influir en la proliferación, ya sea por isquemia ó por falta de espacio para crecer.³³

Todos estos factores contribuyen a la variabilidad biológica de los tumores.

2.6.2.3. Concepto de ploidia. Citometría de Flujo

La información genética de la célula está contenida en el DNA nuclear, que controla las funciones celulares a través de la producción del m-RNA. El contenido de DNA nuclear de las células que no están en división es generalmente constante a lo largo de toda su vida. En la mayoría de células en fase de división, después de la mitosis, su contenido de DNA representa el contenido cromosómico diploide (2C); éste aumenta al doble (4C) durante la fase de síntesis, para volver al estado diploide después de la mitosis.

Los tejidos humanos normales contienen células con un contenido diploide de DNA, lo cual corresponde al cariotipo normal de 46 cromosomas (2C). La mayoría de los tumores sólidos también contienen células diploides, pero el contenido de DNA de algunas células tumorales es mayor ó menor que el valor diploide normal. Estos tumores son los llamados aneuploides. La aneuploidia proviene de la pérdida ó ganancia de algún cromosoma ó porciones de cromosoma en el cariotipo, como ya hemos mencionado.

La aneuploidia es un hecho bien conocido en las neoplasias humanas y, en distintos tumores (ovario, vejiga, mama, colon), las anomalías de la ploidia han tenido significado pronóstico. 12,13, 106, 167,195,344,350,383

A mediados de siglo se intentaron medir, según el DNA, el número de células en un tumor.¹³⁸ Esta medición era solo aproximada porque la extensión de la poliploidía (nº de células que contienen más cromosomas que el valor diploide normal) no era conocida.

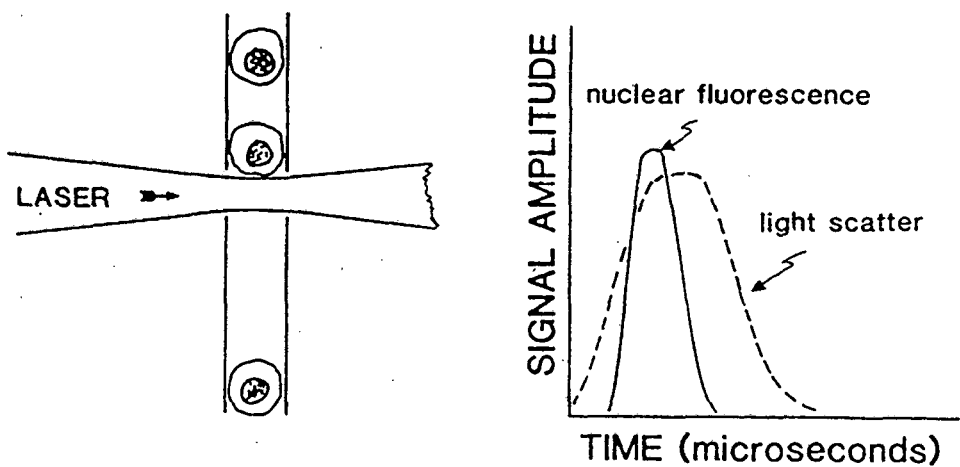
Los autores calculaban que la poliploidía podría explicar mejor que la actividad mitótica el aumento del DNA por núcleo. Este concepto estaría de acuerdo con la observación que la actividad mitótica de los gliomas es relativamente rara comparada con tumores sistémicos de similar grado de malignidad.¹⁹⁶

Ha transcurrido más de un siglo desde la descripción citológica de la cromatina por Flemming y desde que von Hausemann en 1893 introdujera el término anaplasia para significar la falta de diferenciación celular de las células tumorales. Desde entonces, los patólogos han ido desarrollando nuevos y más refinados criterios para mejorar el diagnóstico y la subclasificación de las neoplasias. Sin embargo el comportamiento biológico, y por tanto el pronóstico, de ciertos tumores, no puede predecirse en base a datos morfológicos. Tanto en Estados Unidos como en Europa se han desarrollado en las dos últimas décadas nuevas tecnologías diagnósticas para desvelar las propiedades biológicas heterogéneas de los tumores. Una de estas tecnologías es la "DNA-citometría de flujo", ^{72,266} que significa el estudio específico del DNA celular mediante la técnica de citometría de flujo. Van Dilla desarrolló este método en 1969;³⁵⁸ desde entonces los avances en esta nueva tecnología han sido importantes.

La base fundamental de la citometría de flujo es el principio de la fluorescencia. Las tinciones fluorescentes ó fluorocromos poseen la cualidad de teñir específicamente a las células, de tal manera que su grado de fluorescencia refleja cuantitativamente la cantidad de substrato teñido. Los fluorocromos usados para la citometría de flujo deben poseer ciertas características: (1) especificidad de tinción del componente celular que interesa; (2) unión cuantitativa; (3)

penetración rápida en la célula; (4) alto poder fluorescente y (5) el espectro de emisión y excitación debe ser suficientemente claro y poseer la suficiente separación para que puedan ser analizados las señales de cada uno (Fig F-7).

Fig F-7. Ilustración esquemática de la dispersión de la luz y fluorescencia derivadas del análisis de las células teñidas con fluorocromos para el DNA. La figura de la izquierda muestra una suspensión de tres células atravesando el haz del láser, una ya lo ha hecho y las otras dos están a punto de hacerlo. La figura de la derecha muestra la dispersión luminosa (relacionada con el tamaño celular) y la fluorescencia emitida por la célula que pasa por el haz de láser una vez teñida.

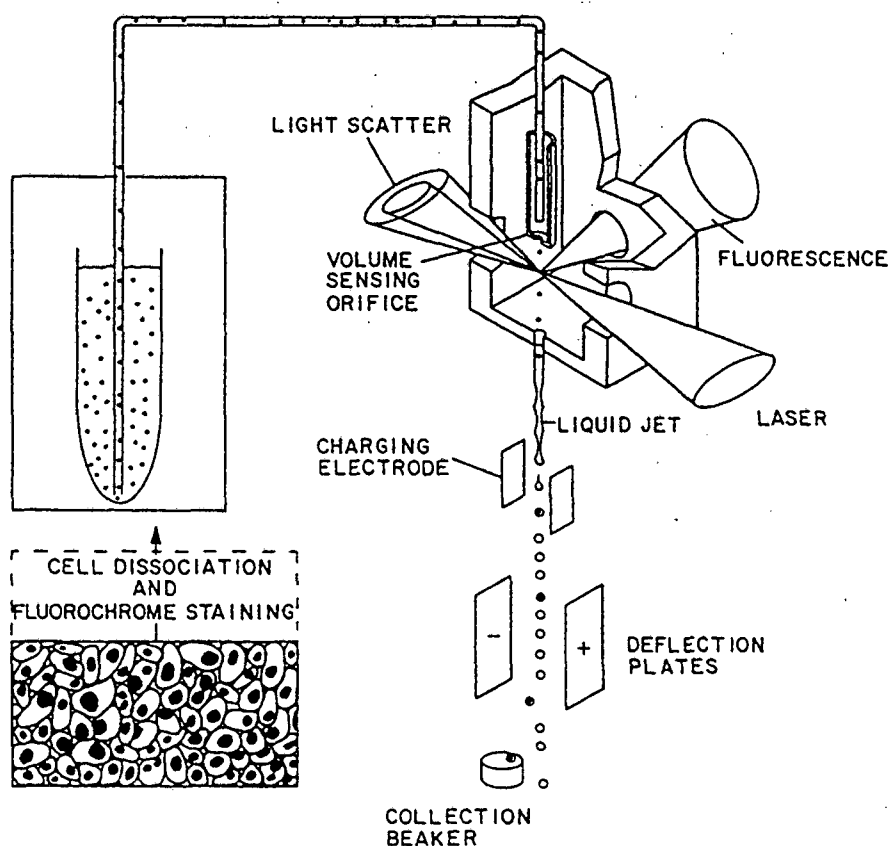


La citometría de flujo requiere una suspensión monodispersa de células sin agregados celulares que podrían provocar una mala interpretación de los resultados. Los tumores sólidos son los que dan más problemas por su propia naturaleza.

No hay una metodología universal para el análisis del DNA; sin embargo, un método muy extendido es el desmenuzamiento y criba a través de una malla de nylon de 70 μ , seguida de digestión enzimática y fijación con etanol. Si sólo se desea cuantificar el DNA, sería suficiente con el aislamiento de los núcleos; de esta manera se obvia la eliminación del RNA cuando se usan fluorocromos que tiñen tanto el DNA como el RNA.

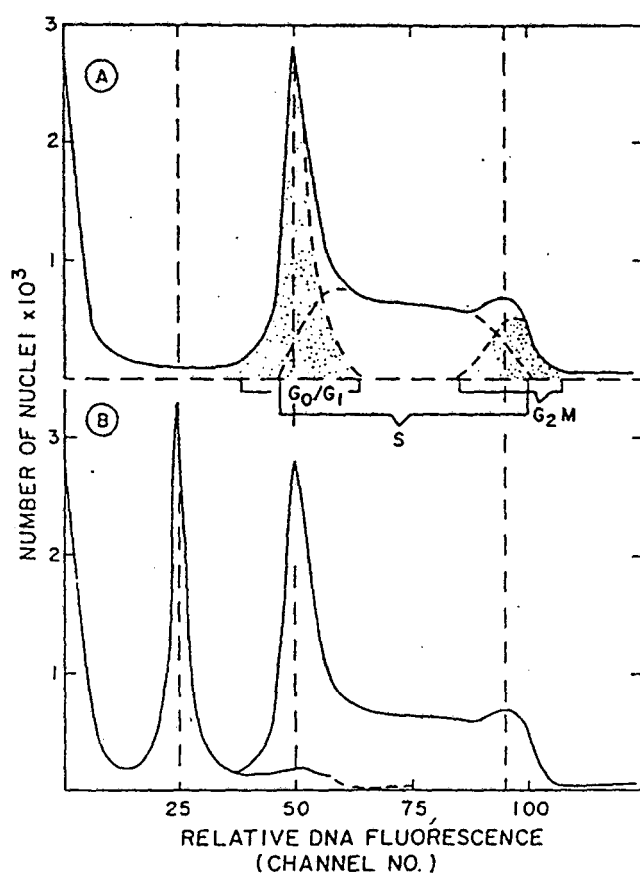
Con la citometría de flujo se mide la cantidad de DNA de cada célula según la fluorescencia que emite el DNA, teñido por fluorocromos específicos, cuando los núcleos se iluminan mediante un rayo láser. El láser se enfoca a 1 μ de la sección de corte, excita los fluorocromos y entonces la dispersión de la luz y las señales de fluorescencia de las células pueden ser procesadas electrónicamente consiguiendo información morfológica (Figs F-8).

Fig F-8. Esquema de los principios básicos del análisis del DNA mediante la citometría de flujo. Las células se disocian y se tiñen con fluorocromos específicos para el DNA, después se hacen pasar a través de un haz láser para medir la dispersión de la luz y la fluorescencia emitida.



La fluorescencia emitida por las células se refleja en un histograma, pudiéndose analizar 50.000 células por minuto y en el histograma se reflejan, en %, las fracciones G₁, S y G₂M (Fig F-9).

Fig F-9. Histogramas hipotéticos de dos distribuciones distintas del DNA medidas por citometría de flujo. En (A) se muestra un patrón diploide, con un pico en el canal 50 (contenido celular 2C), que representaría la población celular G₀/G₁, y otro pico en el canal 100 (contenido celular 4C), que representaría las poblaciones celulares G₂/M. Entre los dos picos, queda representada, en forma de meseta, las células en fase S. En (B) el patrón es aneuploide, observándose otra subpoblación diploide en el canal 25.



Los fluorocromos para el DNA, usados para la citometría de flujo, se basan en los principios de tinción de los ácidos nucleicos y del DNA establecidos en Alemania por investigadores como Mieschner en 1871, Feulgen y Rossenbeck en 1924 y Sandritter en 1964. Desde entonces se han desarrollado numerosos métodos de tinción de distintos marcadores tumorales. La analogía de la citometría de flujo con la hematoxilina-eosina y el Papanicolau es el uso de fluorocromos específicos para el DNA con el fin de detectar el contenido anormal de DNA del núcleo.

La citometría de flujo tiene aplicaciones clínicas, permitiendo medir cuantitativa y objetivamente parámetros histocitomorfológicos usados comunmente para clasificar los tumores sólidos, tales como los tamaños celular y nuclear, la relación núcleo/citoplasma, el número de nucleolos, la diferenciación y la respuesta celular.^{104,227} Con ello se intenta conseguir un mayor entendimiento biológico de las clasificaciones tumorales.

Aunque hay limitaciones en la discriminación, por citometría de flujo, de las células cíclicas y no cíclicas de los tumores sólidos, se cree que la distribución del DNA en tantos por ciento (%) de fase S refleja el estado proliferativo tumoral y está relacionado indirectamente con la fracción de crecimiento tumoral y el tiempo de duplicación del tumor ("tumor doubling time").⁶¹ La mayoría de autores expresan el porcentaje de células en proliferación activa mediante el índice de proliferación (PI) que sería la suma de las fases G2M+ S, definida por la fórmula:

$$PI = \frac{S + G_2 + M \times 100}{G_0 / G_1 + S + G_2 + M}$$

La ploidia de la célula tumoral es un marcador celular estable, independiente de la localización tumoral y constante en el tiempo, hecho que nos permite usar material fijado e incluido en parafina, lo que permite el estudio de grandes series.

El grado de aneuploidia se basa en el Índice de DNA. El índice de DNA representa el contenido relativo de DNA de las células tumorales G0/G1 en comparación con un granulocito diploide standard. El índice de DNA (DI) de una célula diploide normal es por definición igual a 1, mientras que las células aneuploides tienen un DI superior o inferior a 1.

2.6.2.4. Marcadores de proliferación

Otros marcadores de proliferación, usados como índices de malignidad y comportamiento biológico, son la timidina, el Ki-67, la Bromodesoxiuridina (BUdR) y los AgNOR.

2.6.2.4.1. Timidina

La timidina es un precursor del DNA. Se incorpora al núcleo en la fase de duplicación celular (fase S) para prepararse a la división celular. El tritio radiactivo se incorpora a la timidina, y puede detectarse en emulsiones fotográficas de una laminilla.

El índice de tinción (TLI) de las células sometidas al efecto de la 3H-Timidina inyectada endovenosa 1-2 días antes de la intervención por métodos autoradiográficos nos muestra la capacidad

proliferativa del tumor, midiendo el porcentaje de células tumorales en la fase de síntesis (S).

Hace más de una década que se ha venido usando^{143,145,146,147,148} pero es un método que implica la administración endovenosa de una sustancia radiactiva, es costoso y se necesitan meses para completar todo el estudio. Por ello, sobre todo por el desarrollo de nuevas técnicas mucho más asequibles, su valor ha quedado muy limitado.

2.6.2.4.2. Ki-67

El Ki-67 es un anticuerpo monoclonal dirigido contra un antígeno nuclear humano que está presente en las fases S, G1, G2 y M del ciclo celular.¹¹³ Con técnicas inmunohistoquímicas se mide el porcentaje de células Ki-67 positivas estimándose la fracción de crecimiento de un tumor.^{44,112,244,276,301,385} Como marcador de proliferación celular, la positividad del Ki-67 indicaría el número de células en cada fase del ciclo. Empezaría a expresarse a mitad de la fase G1; las células G0 y en la fase inicial de G1 serían negativas; la positividad iría creciendo hasta las fases G2 y M que serían las mas positivas.²⁹⁴

Distintos estudios han demostrado que valores altos de Ki-67 estarían relacionados con la recidiva y la malignidad de los tumores. ^{301,330}

En los meningiomas y otros tumores cerebrales se ha encontrado una correlación entre la capacidad proliferativa y los valores de Ki-67 ^{276,301,385} y también en los linfomas no-Hodgkin,³²³ aunque los

resultados de Hall en este tipo de tumores sorprenden, pues mientras que altos valores de Ki-67 se relacionaban con un mal pronóstico en los linfomas de bajo grado, altos índices de Ki-67 eran de buen pronóstico en los linfomas de alto grado. Los resultados son todavía mas controvertidos en los tumores de mama y colorectales.

200,329

Se ha usado el Ki-67 para testar el efecto del tratamiento hormonal en los meningiomas, estudiando la acción de la medroxiprogesterona en la fracción de crecimiento tumoral,²²⁵ hallando que los pacientes tratados con la medroxiprogesterona tenían menores índices de Ki-67.

El método del Ki-67 tiene el inconveniente de precisar tejido fresco.

2.6.2.4.3. Bromodesoxiuridina (BUdR)

La bromodesoxiuridina es un análogo de la 3H-Timidina que al igual que ella, es incorporada dentro del DNA nuclear en la fase de síntesis (fase S).

En 1982 Gratzner¹²¹ dio a conocer en *Science* el desarrollo de un nuevo anticuerpo monoclonal que identificaba los núcleos que contenían bromodesoxiuridina (BUdR). Midiendo el índice de tinción (labeling indice=LI) de la BUdR por métodos inmunohistoquímicos, obtenemos el porcentaje de células en fase de síntesis, consiguiendo valiosa información de la cinética celular.

61, 88,151,250

Distintos investigadores ^{152,160,249,331} sugieren que los meningiomas con un LI > 1% crecen más rápido y recidivan más. Hoshino¹⁵² estudió 18 tumores cerebrales, correlacionando los porcentajes de fase S con los LI-BUdR, hallando que los resultados con la BUdR eran similares a estudios previos con la timidina, en lo que concuerda Sasaki.³¹⁵

La BUdR debía administrarse al paciente con potenciales efectos secundarios como su mielotoxicidad y teratogénesis.^{152,273,276} Sasaki ³¹⁵ describió un método, seguido por otros autores, ^{244,259} que obvia el uso de la administración al paciente. Morimura, ²⁴⁴ en tumores cerebrales, ensayó por primera vez un nuevo método *in vitro* y comparó los resultados con los obtenidos mediante el Ki-67, observando que los valores del índice de bromodesoxiuridina (LI-BUdR) eran aproximadamente un 30% de los obtenidos mediante el Ki-67. Estos resultados concuerdan con los estudios de cinética y del ciclo celular que muestran que la duración de la fase S (Ts) es bastante constante en el hombre.²⁰ El índice de tinción de la fase S se mide por la fórmula: $LI(S) = Ts/Tc$, donde Tc es el tiempo medio del ciclo celular. Si en los gliomas el Ts es de 10 horas y el Tc de 20-50 horas el LI (S) sería el 20-50 % de la fracción de crecimiento medida por el método del Ki-67.¹⁴⁵

Es decir, con la bromodesoxiuridina se mide la fase S y con el Ki-67 todas las fases del ciclo celular, representando la fracción de crecimiento.

2.6.2.4.4. Nucleolar Organizer Regions (NORs)

La transformación de una célula normal en neoplásica se caracteriza por un aumento de la síntesis proteica y por una gran basofilia del citoplasma. Además puede haber un aumento del tamaño y del número de nucleolos, lo que significa un aumento de la síntesis de RNA-r para satisfacer la demanda creciente de proteínas por el tumor. Esta relación puede evaluarse mediante los NORs, cuyo número reflejaría fenómenos relacionados con la actividad metabólica de la célula, como hiperplasia o malignización. De hecho un estudio preliminar mostró dos AgNORs por núcleo en la hiperplasia prostática y "varios" en el carcinoma de próstata.²⁹¹

Los NORs (Nucleolar Organizer Regions) son segmentos cromosómicos en los que se codifica el RNA-r, proyectándose en grandes lazos de DNA. Se localizan en los brazos cortos de los cromosomas acrocéntricos 13, 14, 15, 21 y 22 en el cariotipo humano.

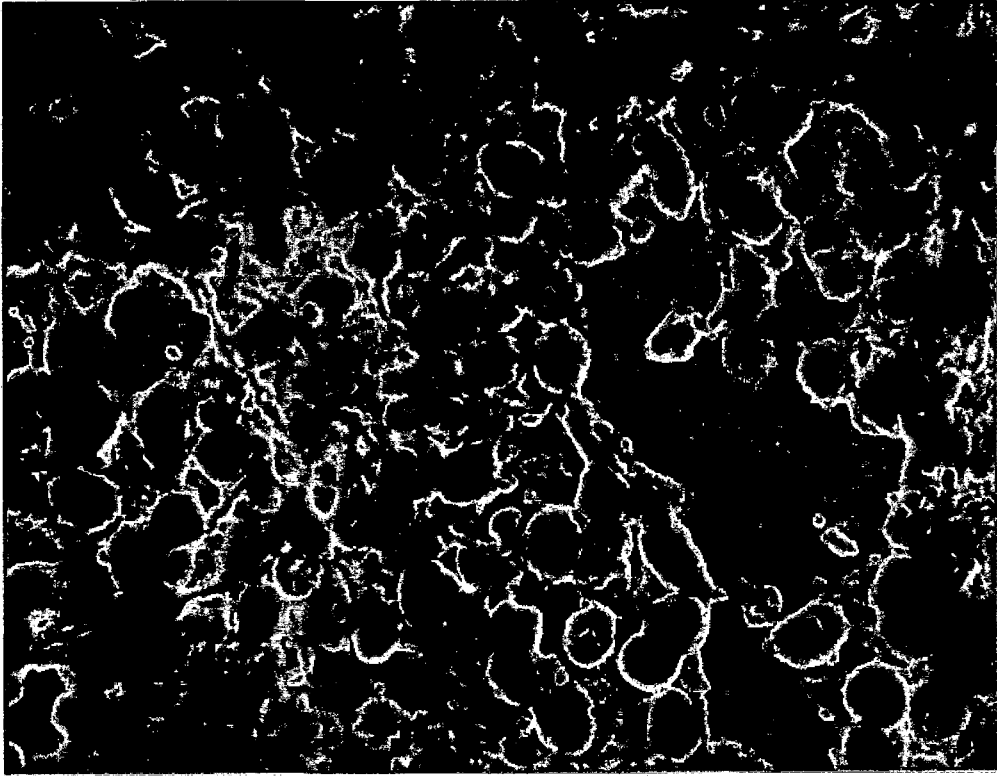
²⁷³ El hombre posee cinco pares de cromosomas acrocéntricos y cada

uno soporta dos NOR, por lo que cada célula diploide normal tendrá 20 NORs.

Los NOR pueden observarse mediante tinciones de plata, gracias a la argirofilia de las proteínas ácidas asociadas con estos sitios de transcripción del RNA-r.¹²⁰ Estas proteínas están posiblemente relacionadas con la RNA polimerasa I, la proteína B-23 y la C-23.

^{205,370} La argirofilia de estas proteínas, conocidas como AgNORs, refleja la actividad nucleolar. ^{60, 265,273, 370} Los NOR aparecen como pequeñas manchas negras o marrones dentro del núcleo, que contrastan con el tono amarillento del fondo (Fig. F-10).

Fig F-10. Ejemplo de la observación de los AgNORs en una laminilla, mediante tinción argéntica. (1000 aumentos).



El número de NORs sería la expresión de la actividad celular y la proliferación de las células tumorales.^{14,34,60,194, 207, 228,258,273}

La técnica de los NORs fue introducida de manera sistemática por Ploton²⁹¹ y Crocker y Nar en 1987.⁷⁶ Desde entonces ha sido cada vez más usada, siendo considerada como una alternativa a la Citometría de Flujo, al Ki-67 y al LI-BUdR,⁴⁵ porque es fácil, relativamente barata y aplicable a material de archivo.^{289,294, 307}

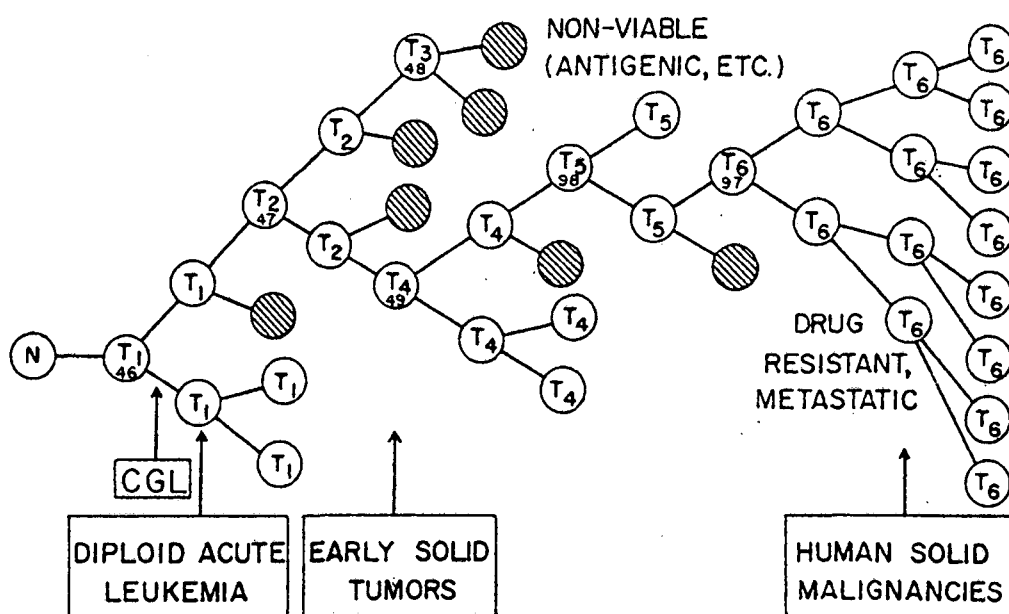
2.6.3. Factores que predisponen a la formación de meningiomas

2.6.3.1. Factores genéticos

El principal factor genético en los meningiomas es la monosomía 22 de la neurofibromatosis tipo 2.⁶⁸ Los pacientes con esta enfermedad han perdido una parte del cromosoma 22 ^{67, 220, 268, 379, 381} y tanto pueden desarrollar meningiomas como neurinomas. Seizinger y col. especularon con la existencia de un mecanismo común en el desarrollo de los meningiomas y neurinomas.³²⁸ En algún caso de carcinoma de mama también se pierde una parte del cromosoma 22;¹⁹⁷ este hecho explicaría mejor que un efecto estrogénico, la asociación de meningioma con carcinoma de mama.¹⁹⁷ Es sorprendente, sin embargo, que de los 60 casos de meningioma maligno del trabajo de Wilson ninguno se asociase a carcinoma de mama.³⁷⁰

Nowell²⁶² apunta la hipótesis del origen unicelular de la mayoría de las neoplasias. Una célula normal diploide cambia, por diversas circunstancias (y que sería específica para cada neoplasia), y se transforma en neoplásica, proliferando de tal manera que a consecuencia de una inestabilidad genética, se producen poblaciones celulares mutantes cada vez más indiferenciadas, tanto genética como biológicamente, y con más número de cromosomas (más aneuploides) (Fig. F-11). Hay pocas excepciones para esta teoría unicelular del desarrollo tumoral, que incluirían los tumores de origen vírico o las neoplasias con un componente hereditario,

Fig. F-11. Modelo de la evolución clonal de los tumores (Nowell, 1976). Un carcinógeno (CGL) provoca un cambio en la célula progenitora normal (N) iniciándose la expansión clonal. La inestabilidad genética en las células T1 ocasionará subpoblaciones celulares con contenido cromosómico mayor (células T2 a T6). Los círculos rayados son células que mueren.



Algunos investigadores han demostrado la presencia del antígeno T papovavirus en los meningiomas, aún cuando las técnicas no han sido muy concluyentes.¹⁵⁴ Se examinaron, por métodos inmunocitoquímicos, 336 tumores del SNC hallando en 36 casos el antígeno T papovavirus, y de estos 36 casos, 32 eran meningiomas.

365,378 Ibelgaufts¹⁵⁴ halla la presencia de adenovirus en 5 de 7 meningiomas.

Rachlin y Rosenblum han demostrado la inducción del crecimiento de meningiomas por el antígeno T del herpes virus.²⁹⁶

Barbanti-Brodano halló el DNA de los virus BK en el 30% de 40 tumores cerebrales, incluyendo dos de diez meningiomas.¹⁸ Estos datos sugieren que el DNA ó RNA vírico pueden hallarse en los meningiomas, si bien no es posible asegurar que sean estos virus los agentes etiológicos de los meningiomas. Es posible que, para algunos tumores, los defectos genéticos heredados potencien la acción de los carcinógenos externos, incluyendo los virus, y aumente la probabilidad de la transformación neoplásica. Sin embargo, no queda claro que los virus sean los responsables de esta transformación, o que solo sean meros vehículos infectantes de las células que ya han sufrido la transformación neoplásica.²⁹⁶

2.6.3.3. Radioterapia

Parece probado que la radioterapia, tanto a altas como a dosis bajas, es un factor causal en algunos meningiomas. Mann describió por primera vez un meningioma post radioterapia en una niña tratada por un glioma del nervio óptico. En 11.000 niños irradiados por tiña capitis, la proporción de meningiomas fue cuatro veces superior a los controles.²⁴³ Hay casos mas recientes que demuestran el desarrollo de meningiomas años después de irradiación por otras lesiones intracraneales,^{17,52} siendo más frecuentes en los meduloblastomas²⁶⁷ y adenomas hipofisarios.^{279,339} En estos casos,

la radiación pudo ser la responsable de una anomalía cromosómica que ocasionara la pérdida de la secuencia supresora de la célula.

Los meningiomas inducidos por radioterapia tienden a ser más agresivos o francamente malignos, tienen un alto porcentaje de recidivas y pueden ser múltiples.^{304,336,370} Histológicamente, tienen

hipercelularidad, pleomorfismo celular y células gigantes, lo que explicaría un crecimiento más agresivo.

En la Tabla F.III se resume el efecto de los distintos factores enumerados sobre el crecimiento tumoral.

Tabla F.III. Distintos factores que influyen en la evolución tumoral (Nowell 1976)

Factores que influyen los distintos estadios	Estadios del desarrollo tumoral		
	Inicio de la neoplasia	Inestabilidad genética	Desarrollo de subpoblaciones
<i>Carcinógenos</i>			
1. Radiación	+	+	
2. Químicos	+		
3. Virus	+	+	
<i>Defectos genéticos</i>			
4. Heredados			
• Mutabilidad aumentada	+	+	
• Inmunodeficiencia			+
5. Adquiridos			
• Mutabilidad aumentada		+	
<i>Medio ambiente tumoral</i>			
6. Nutrición		+	+
7. Infección			+
8. Estado inmunitario		+	+
9. Terapéutica			+

2.6.3.4. Traumatismos

En la clásica monografía de Cushing, 93 de los 295 pacientes afectos de meningiomas tenían un antecedente traumático, y Cushing pensó que el traumatismo era un factor importante en su desarrollo.⁸³ Más tarde, Grant¹²² en una revisión general de 149 meningiomas, aportan 14 casos con un traumatismo como causa. Schiffer ha publicado tres casos de meningiomas desarrollados en el lugar de una fractura antigua,³²⁰ y otras publicaciones,^{296,353,367} hacen notar la concurrencia de meningioma y un antecedente traumático. Esto puede, de alguna manera, significar una inducción tumoral por el proceso de reparación de la herida. Sin embargo, un estudio epidemiológico de 2953 pacientes traumáticos no ha demostrado mayor incidencia de meningiomas.⁷

2.6.3.5. Factores hormonales

No es motivo de esta tesis abundar en la búsqueda de alternativas terapéuticas, pero creemos que son importantes unas reflexiones sobre el conocimiento actual de la relación hormonal con el meningioma, que puedan sernos útiles para la comprensión de su comportamiento clínico-biológico.

Los meningiomas poseen unas características clínicas que sugieren una relación con las hormonas sexuales: son más frecuentes en las mujeres^{179,309} en proporción de 2 : 1 y 4 : 1 para los meningiomas intracraneales y raquídeos respectivamente; ⁸³ crecen con mayor rapidez durante el embarazo y al final del período menstrual ^{26, 239, 300,312} y es segura su correlación con el carcinoma de mama. ^{305,322}

Rubinstein aporta 10 casos de meningiomas asociados a carcinoma de mama, advirtiendo que las neoplasias intracraneales en los pacientes con carcinoma de mama conocido no deben ser consideradas como metástasis sin una biopsia previa. Calogero,⁵⁰ en base a uno de sus casos que aumentó durante el embarazo, revisa las distintas patogénesis dadas anteriormente: aumento de la retención hídrica,^{26,366} o un aumento del aporte vascular,¹⁸² apuntando otras teorías que expliquen mejor el desarrollo tumoral durante el embarazo. Lo propio hizo Schoenberg,³²² sugiriendo factores hormonales en la asociación del cáncer de mama y los meningiomas.

El descubrimiento de receptores estrogénicos y progesterónicos en el carcinoma de mama condujo a estudiar la respuesta hormonal "in vitro", observándose que se estimulaba su crecimiento con el estradiol^{158,204} y se inhibía con su antagonista tamoxifeno.^{66, 204, 347.}

Más recientemente también se ha demostrado que los meningiomas poseen receptores esteroideos,^{93,232,292,321} con gran predominio de los receptores progesterónicos que tendrían mayor especificidad que los estrogénicos.^{39,49,132,292,359} El grupo de Lesch demostró que, de 70 meningiomas, 53 tenían actividad progesterónica pero solo 5 tenían el receptor unido al núcleo.²⁰² Schrell concluyó que probablemente los meningiomas no poseen actividad estrogénica.³²⁴

Aún cuando el efecto hormonal de los meningiomas es controvertido, numerosos investigadores continuaron sus ensayos

para determinar una posible manipulación endocrina que sea útil en su tratamiento.^{28,30,140,157,189,225,230,269,326,368,382}

Zava y col. demostraron, "in vitro" una estimulación del crecimiento tumoral con la dihidrotestosterona y la hidrocortisona, sin observar efectos con el estradiol, progesterona ó tamoxifeno. En cambio Jay¹⁶⁹ encuentra un efecto estimulador sobre las células del meningioma "in vitro" con estas tres sustancias. Markwalder mostró que el tamaño tumoral no se modificaba con el tamoxifeno,^{223,224} y Jääskeläinen¹⁶⁵ no halló respuesta mediante tratamiento con medroxiprogesterona. En el estudio de Olson se demuestra que los meningiomas son sensibles a la manipulación hormonal *in vitro* , pero no de manera uniforme: dos de tres tumores se estimularon con el estradiol y la progesterona, mientras que en el tercero tuvieron un efecto inhibidor del crecimiento. Las diferencias en las concentraciones del estradiol y la progesterona podían influir en el resultado, pues concentraciones superiores tienen un efecto inhibidor e incluso pueden provocar la muerte celular.²⁶⁹ Los distintos resultados de las series pueden también estar influenciados por el tiempo de incubación de las muestras. El efecto aparentemente paradójico del tamoxifeno que provocó estimulación en dos de los casos de Olson, podría explicarse porque el tamoxifeno, aparte de su efecto antagonista estrogénico, también posee ciertas propiedades agonistas³¹⁷ que quedarían resaltadas por las peculiares características del receptor de los meningiomas.²⁶⁹

También es conocido que los meningiomas poseen, en un 92-100%, receptores androgénicos;³⁹ cuando el tamoxifeno bloquea los receptores estrogénicos, los androgénicos predominan y pueden provocar estimulación del crecimiento, como demostró Zava con la

testosterona³⁸² Lo mismo sucedería con el predominio de los receptores progesterónicos que, al quedar bloqueados los estrogénicos, provocarían estimulación del crecimiento, pues es bien conocido que los meningiomas crecen cuando más progesterona está circulando (gestación, ciclo menstrual).^{26,239} Por último, otra posible explicación del efecto estimulador del tamoxifeno vendría determinado por la falta de receptores estrogénicos.³⁸²

Los antiprogesterónicos tendrían mayor importancia en el tratamiento de los meningiomas. Estos agentes compiten con la progesterona para la unión con el receptor, inhibiéndose el crecimiento tumoral.²⁶⁹

Según Whittle y col.³⁶⁸ la actividad del receptor progesterónico estaría relacionado con un comportamiento clínico más benigno, por lo que su ausencia en los hemangiopericitomas explicaría su comportamiento más agresivo²²² y las recidivas más frecuentes en los meningiomas que no los poseen.¹⁹⁰

Maiuri halló que los estrógenos no afectaban el crecimiento de los meningiomas, mientras que la progesterona lo disminuía en seis tumores, todos con receptores progesterónicos.²¹⁴ Waelti y Markwalder hallaron que el acetato de medroxiprogesterona disminuía el crecimiento en el 35% de los tumores.^{225,363} El acetato de medroxiprogesterona se piensa tiene propiedades antiestrogénicas en la proliferación celular inducida por estrógenos y tiene un efecto supresor sobre el eje hipofisario-gonadal.^{51,282} La medroxiprogesterona se une a los receptores progesterónicos y ejerce un efecto inhibitor del crecimiento de las células tumorales

en cultivo.²²⁵ Otros autores, sin embargo, no hallaron efecto de la medroxiprogesterona sobre el crecimiento tumoral.¹⁶⁵

En conclusión, parafraseando a Olson (Olson 1986) *"... aún cuando los resultados no son uniformes, persiste la certeza de que los meningiomas pueden manipularse hormonalmente. Son necesarias nuevas investigaciones in vitro e in vivo, para desarrollar una terapéutica alternativa en los meningiomas inextirpables ó recidivados "*.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

"Trato de ser breve y me vuelvo oscuro."

Horacio: Ars poética

La mayoría de los meningiomas son tumores benignos, pero en un porcentaje no desdeñable tienen un comportamiento clínico agresivo, recidivan, infiltran localmente e incluso metastatizan. Dicho comportamiento no siempre es previsible con el estudio histológico clásico³⁶⁹ análisis ultraestructural⁵⁶ o por medios de cultivo.¹⁸⁸ Los estudios de cinética celular pueden mejorar nuestra comprensión sobre el comportamiento biológico tumoral.⁸⁵

En vista de las consideraciones previas, nos proponemos como objetivos de esta tesis:

1. Evaluar la capacidad proliferativa de los meningiomas mediante: (a) análisis del DNA celular por citometría de flujo y (b) estudio del número de AgNORs.
2. Correlacionar estos parámetros con: (a) el grado histológico de malignidad, (b) las características clínicas de los tumores y (c) la recidiva.
3. En base a los datos anteriores, intentar predecir qué tumores recidivarán, el tiempo previsible de recidiva y la supervivencia estimada, en el futuro manejo prospectivo de estos tumores.

4. Comparar los resultados de cinética celular, grado y datos clínicos entre los meningiomas craneales y raquídeos, con el fin de definir si existen diferencias en su comportamiento biológico que sean reflejo del comportamiento clínico.

5. Con todo ello intentar una aproximación al pronóstico que será en definitiva, lo que traducirá el éxito o fracaso de un determinado tratamiento en el tiempo.

MATERIAL Y METODOS

4. PACIENTES, MATERIAL Y METODOS

4.1. PACIENTES. CRITERIOS DE INCLUSION Y EXCLUSION

Se han estudiado un grupo de 100 pacientes intervenidos de meningioma del Sistema Nervioso Central durante el período comprendido entre enero de 1980 y marzo de 1993. El seguimiento se midió desde la fecha de la intervención hasta el último contacto ó hasta el fallecimiento del paciente, y se realizó mediante las notas clínicas ó conversación telefónico. La fecha límite fue marzo de 1995.

Entre enero de 1980 y marzo de 1993 se intervinieron en el Servicio de Neurocirugía del Hospital Universitario del Mar un total de 143 pacientes con Meningioma del SNC. Se desestimaron 43 casos, 38 craneales y 5 raquídeos, por distintos motivos (Tabla M.I).

Tabla M.I. Criterios de exclusión de los meningiomas.

Causas de exclusión	Craneales	Raquídeos
Extirpación subtotal	21	2
Muerte postoperatoria	10	1
R a d i o t e r a p i a postoperatoria	1	0
Falta de seguimiento	6	2
<i>TOTAL</i>	38	5

La primera premisa de inclusión fue que la extirpación hubiera sido total, según estimación del neurocirujano, con extirpación o coagulación del punto de implantación dural (grados I ó II de Simpson).³³² Los datos quirúrgicos fueron extraídos de la hoja operatoria de cada paciente. Por extirpación subtotal, se desestimaron para el estudio 23 casos, 21 craneales y dos raquídeos, ambos con un componente extradural y altamente calcificados. La muerte dentro del primer año después del acto quirúrgico fue motivo de exclusión y también la aplicación de radioterapia postoperatoria.

Hemos incluido en la serie un caso de Neurofibromatosis NF-2 con meningomas intracraneales múltiples (caso n° 70).

4.2. CLINICA

Las distintas afecciones sindrómicas de los pacientes se han agrupado en cinco categorías. Se definió la sintomatología básica que presentaba el paciente en el momento del ingreso y que motivó la consulta médica, de acuerdo con una serie de categorías sindrómicas (Tabla M.II).

Tabla M.II Categorías sindrómicas: reflejan la clínica predominante que fue el motivo del ingreso en el hospital.

Síntomas y Signos	
1.	Crisis comiciales
2.	Crisis comiciales + Déficit neurológico
3.	Hipertensión endocraneal (H.E)
4.	H.E. + Déficit neurológico
5.	Déficit neurológico

El déficit neurológico se define como cualquier alteración de las grandes vías sensitivo-motrices, de coordinación o de pares craneales, constatadas objetivamente por la exploración neurológica. Los pacientes de la categoría 3 son aquellos cuya sintomatología principal era la cefalea, aún cuando no presentaran ningún otro signo de H.E. Los pacientes del grupo 5 son los que se presentaban con un déficit neurológico establecido, quedando incluidos en este grupo la mayoría de los casos de meningiomas raquídeos.

4.3. DISTRIBUCION DE LOS MENINGIOMAS

Se registró la localización de los tumores.

Dentro de los meningiomas craneales distinguimos cuatro localizaciones: convexidad, parasagital, basal y fosa posterior. La localización basal implica una aceptación amplia del término, incluyéndose toda la fosa anterior y media.

4.4. GRADOS DE EXTIRPACION DE SIMPSON

Para la valoración de la radicalidad de la exéresis quirúrgica se empleó la escala en cinco grados propuesta por Simpson³³² (Tabla M.III).

Tabla M.III. Grados de extirpación de Simpson

Grados de extirpación	Criterios de extirpación
I	• Extirpación macroscópica total del tumor, junto con la duramadre y el hueso infiltrado, y la parte de tumor que pudiera invadir los senos derales.
II	• Extirpación macroscópica total seguida de coagulación del punto de implantación dural.
III	• Extirpación macroscópica total sin resección ni coagulación de la duramadre o hueso infiltrado.
IV	• Extirpación subtotal.
V	• Descompresión simple.

Un trabajo reciente de Kinjo y Al-Mefty, añaden el Tipo 0, en el que se hace una extirpación total del tumor conjuntamente con un margen de duramadre de 2 cm, con el fin de disminuir la posibilidad de dejar focos tumorales cercanos a la masa principal. ¹⁸³

En realidad, algún caso del grupo I, podría ser incluido en este grupo de extirpación 0, pero al no haberlo sistematizado previamente, preferimos no incluirlo.

4.5. CLASIFICACION PATOLOGICA

Desde el punto de vista morfológico, hemos adoptado la clasificación patológica de la OMS, modificada (Tabla M.IV).

Tabla M.IV. Clasificación histopatológica de la OMS (Zülch 1979). Se incluyen las características histológicas más significativas.

Tipo	Subtipo	Morfología
Clásicos	1. Meningotelial	Cél. meningoteliales formando lóbulos
	2. Fibroblástico	Cél. en forma de uso con colágeno
	3. Transicional	Mezcla del subtipo 1 y 2
	4. Psamomatoso	Predominio de los cuerpos de psamoma
	5. Angiomatoso	Abundantes vasos sanguíneos
Angioblásticos	6. Hemangioblastoma	Cél. endoteliales capilares con estroma de cél. lipídicas
	7. Hemangiopericitoma	Cél. periciticas pobremente diferenciadas con reticulina
Agresivo	8. Papilar	Patrón papilar con poca anaplasia
Maligno	9. Anaplásico	Invasión del parénquima. Metástasis

Hemos diferenciado el hemangiopericitoma del meningioma angioblástico aún cuando existe todavía controversia sobre si realmente son el mismo tumor.⁶² Incluso hay autores que no consideran el hemangiopericitoma como un verdadero meningioma.^{43,84,173,251} Nosotros hemos incluido el hemangiopericitoma dentro de los meningiomas, al igual que otros autores.^{180,306} El principal argumento para su inclusión es la existencia de ejemplos documentados de formas intermedias entre los meningiomas transicionales y fibroblásticos y los hemangiopericitomas.^{142,179,247,287}

El término descrito por la OMS de meningioma agresivo y maligno, como un tipo de meningioma, nos parece que induce a confusión. En nuestro trabajo hemos realizado una gradación de todos los tipos histológicos, asignándoles el nombre de benigno, atípico y maligno, como veremos más adelante. Es decir, diferenciamos la clasificación morfológica de la clasificación por grados de malignidad.

Las muestras para el estudio histopatológico se eligieron de las zonas donde se observó una mayor densidad celular.

Hemos incluido, como una variable independiente del estudio morfológico, la existencia de necrosis para, tras estudio comparativo con otros parámetros, valorar si tenía valor pronóstico por sí misma.

En las figuras M. (1-6) se muestran ejemplos de los distintos tipos.

Fig. M-1. Meningioma meningotelial. Hematoxilina-eosina (x 40)

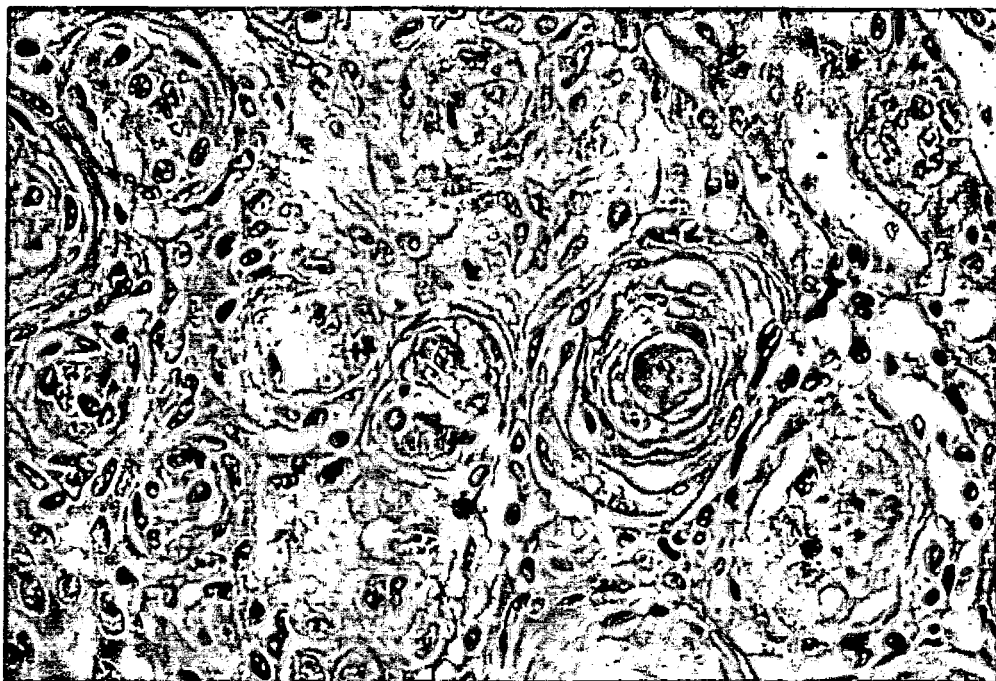


Fig. M-2. Meningioma Fibroblástico. Hematoxilina-eosina (x 20)

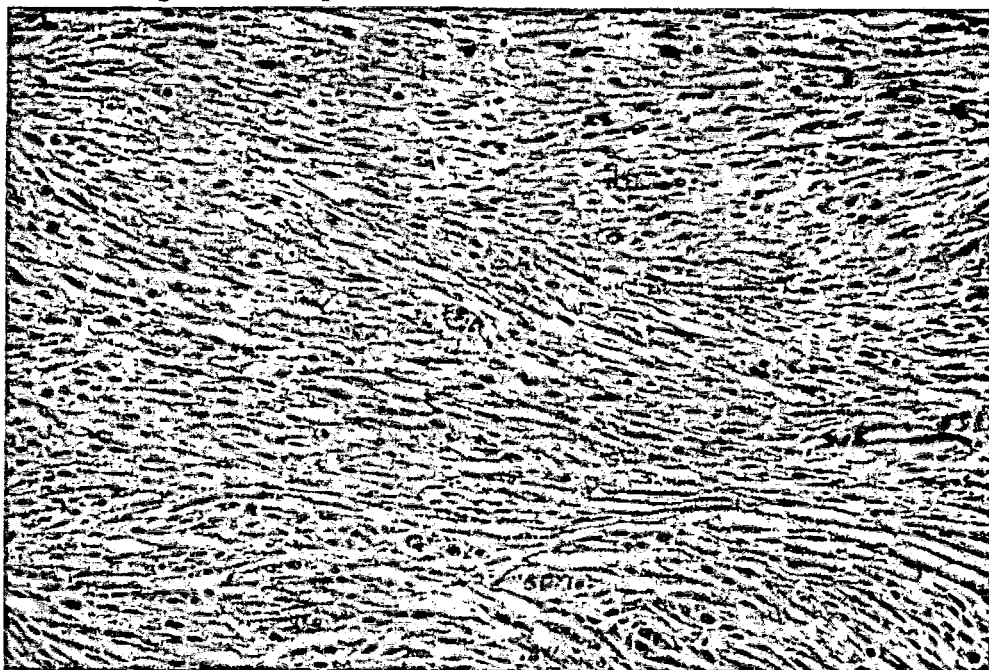


Fig. M-3. Meningioma transicional. Hematoxilina - eosina (x 20)

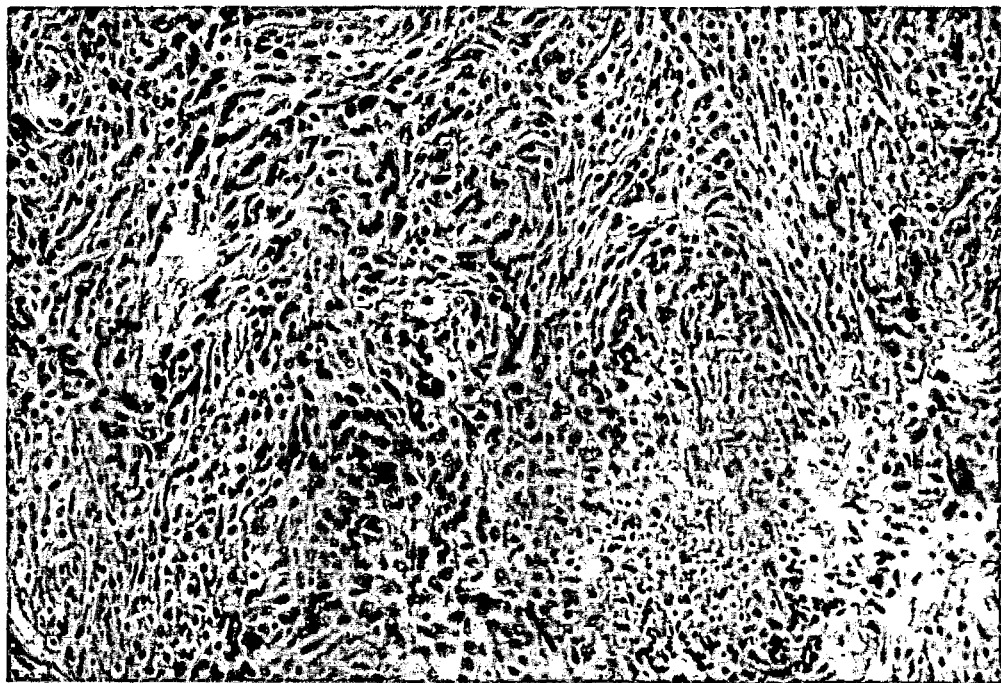


Fig. M-4. Meningioma Psamomatoso. Hematoxilina - eosina (x 40). La flecha señala un gran cuerpo de psamoma.

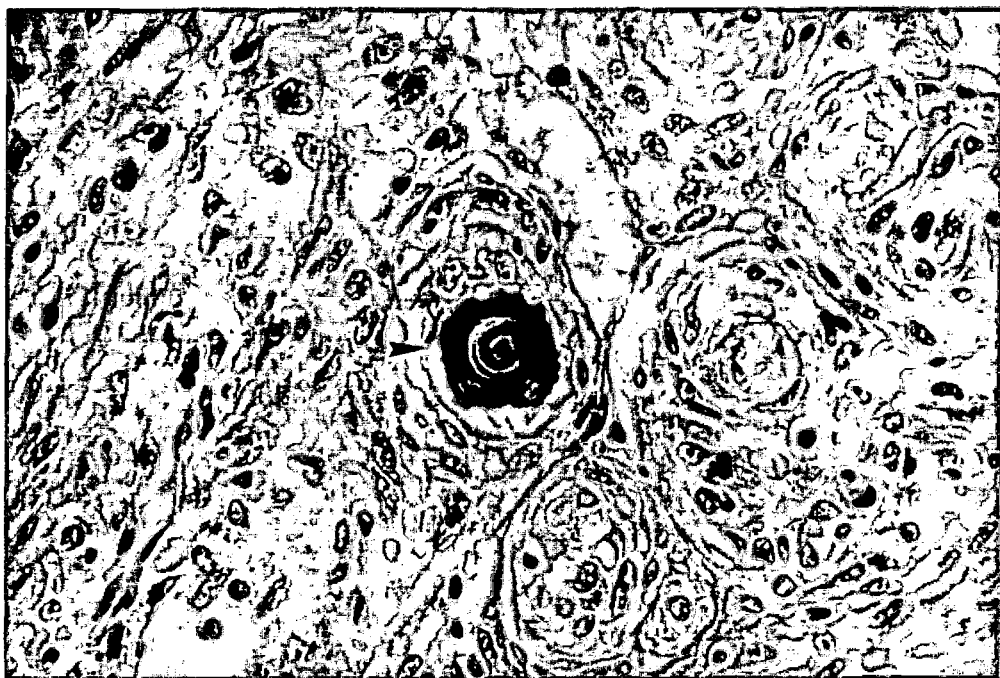
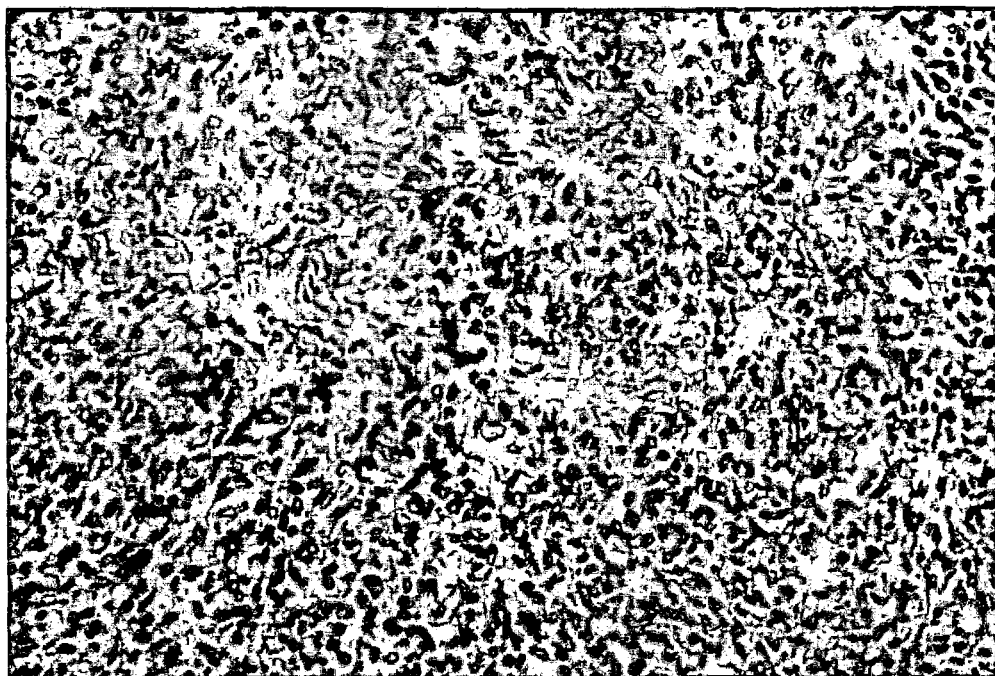


Figura M-5. Meningioma Angiomatoso. Hematoxilina-eosina (x 40)



Figura M-6. Meningioma Hemangiopericítico. Hematoxilina - eosina (x 20)



4.6. METODO DE GRADACION TUMORAL

Hemos seguido el esquema de Mahmood²¹¹ para realizar la gradación de los meningiomas. adoptando, aumentándolos, los criterios de la OMS.

Se consideran seis variables histológicas, a las que se aplica una puntuación dependiendo de los cambios morfológicos que se observen.

4.6.1. Pleomorfismo nuclear (Tabla M.V, Fig. M-7)

Tabla M.V. Pleomorfismo nuclear. (Gradación)

Puntos	Características histológicas
0	Células uniformes con núcleo irrelevante. Cromatina densa, sin nucleolo.
1	Ocasionales grupos de células con núcleos mayores, de contornos irregulares, plegados o mellados.
2	La mayoría de células tienen núcleos mayores que las células meningoteliales normales. Cromatina pálida, membrana celular claramente definida y nucleolos pequeños o ausentes.
3	La mayoría de células tienen núcleos vesiculares, de distinto tamaño, cromatina clara y nucleolos prominentes, a veces múltiples.

Figura M-7. Pleomorfismo nuclear. Meningioma meningotelial (x 100)

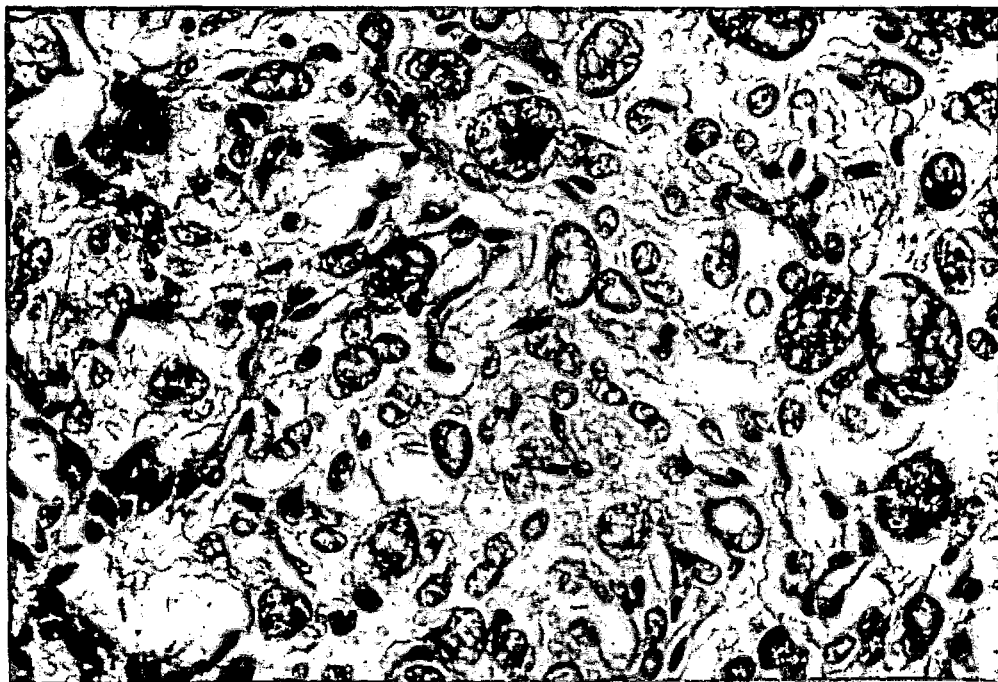
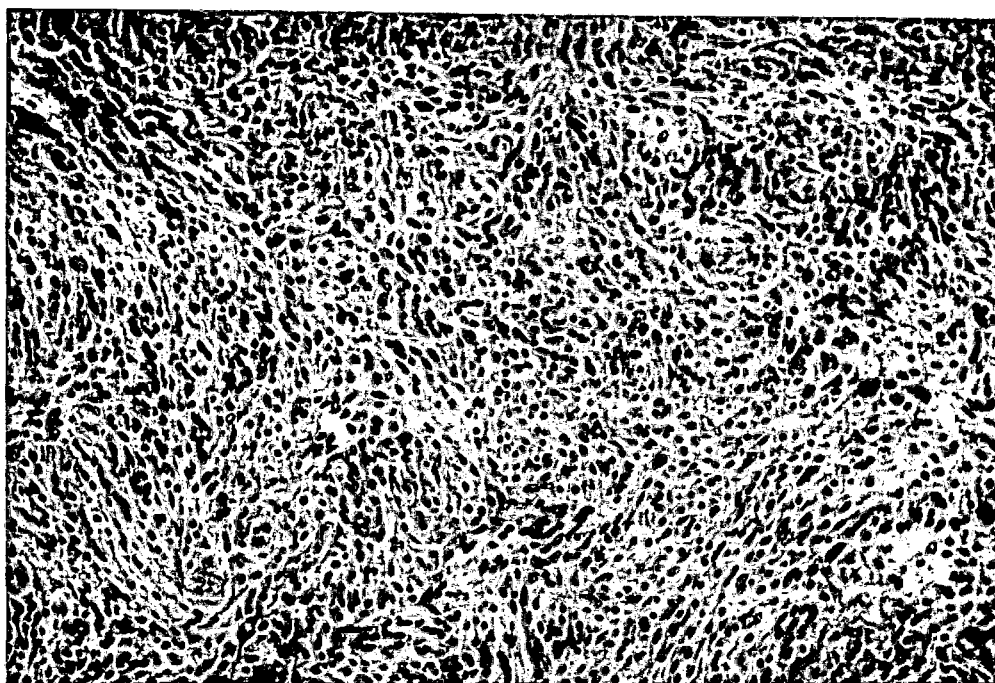


Figura M-8. Hiper celularidad. Meningioma transicional (x 20)



4.6.2. Hiper celularidad (Tabla M.VI, Fig. M-8)

Tabla M.VI. Hiper celularidad (gradación)

Puntos	Características histológicas
0	Disposición de las células en espirales (remolinos), núcleos grandes, irrelevantes, separados por abundante citoplasma. En un campo se observan unas 10 espirales.
1	Igual que el 0, excepto en áreas perivasculares donde se ha perdido este patrón. Las células son mas pequeñas, con menos citoplasma y están mas agrupadas.
2	Las espirales son mas quequeñas y menos definidas. Las células son mas pequeñas y mas agrupadas. En un campo cabrían unas 30 espirales.
3	Celulas muy juntas, en contacto, con muy poco citoplasma. No se forman espirales. El aspecto es de alta densidad celular.

La hiper celularidad es el factor más subjetivo, y sería la expresión de la variabilidad en distintas áreas tumorales. Mahmood y col. refieren que la presencia de ocasionales células neoplásicas con núcleos grandes, hipercromáticos, con cromatina densa y sin nucleolo, lo cual es un hallazgo común en los meningiomas típicos, no se considera un indicador de pleomorfismo nuclear.

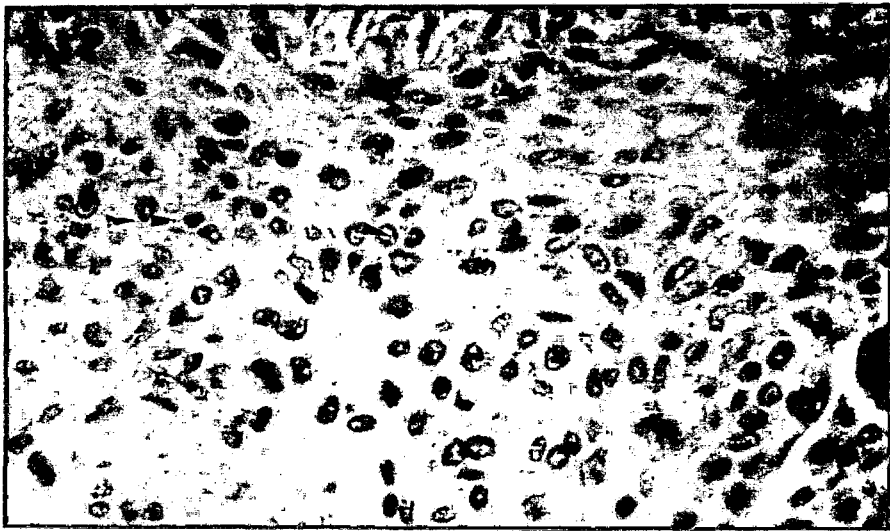
4.6.3. Índice mitótico (Tabla M.VII , Fig. M-9)

Tabla M.VII. Índice mitótico (Gradación)

Puntos	Características histológicas
0	Ausencia de mitosis
1	1-2 mitosis x 10 campos
2	3-4 "
3	> 5 "

Se evalúan todas las muestras posibles, eligiéndose las que exhiben mayor celularidad. Se cuentan las mitosis en 50 campos consecutivos (superficie total de $\approx 2 \text{ cm}^2$). El número total de mitosis se divide por 5 para dar el número de mitosis por 10 campos.

Figura M-9. Presencia de mitosis. Meningioma meningotelial (x 40). Las flechas señalan las mitosis.

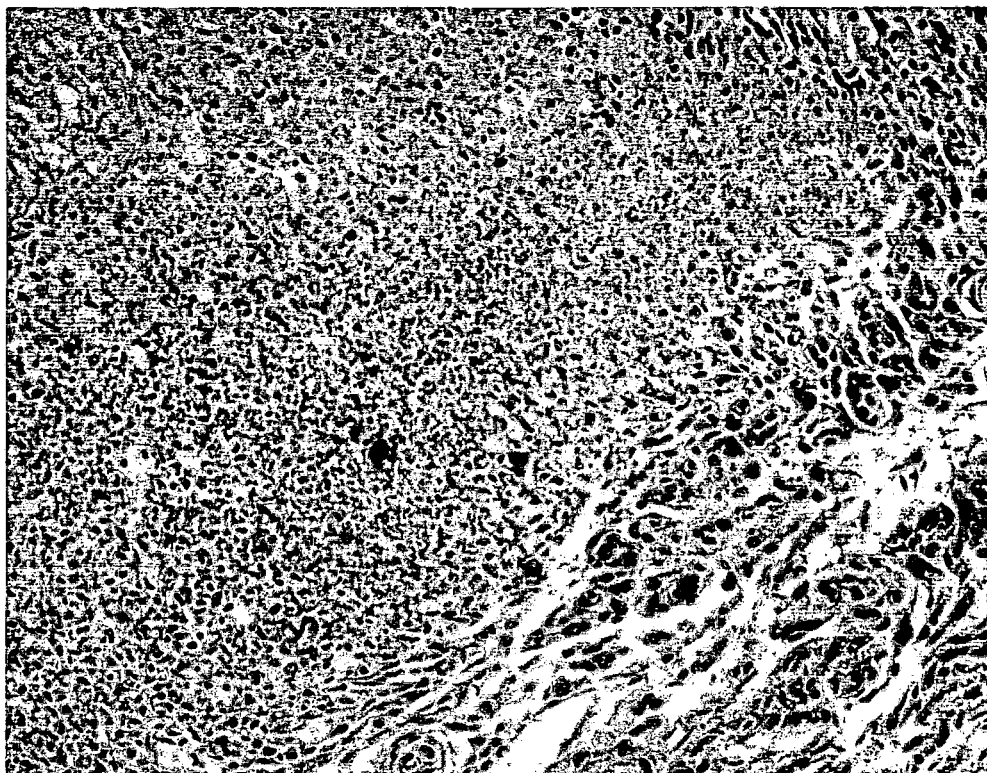


4.6.4. Necrosis (Tabla M.VIII , Fig. M-10)

Tabla M.VIII. Necrosis (Gradación)

Puntos	Características histológicas
0	• Ausencia de necrosis
1	• Focos de necrosis pequeños y escasos. Cada uno ocupa menos de la mitad de 1 campo.
2	• Focos de necrosis fácilmente identificables, pero todavía son pequeños. Cada uno abarca menos de un campo.
3	• Focos de necrosis grandes, confluentes. Cada uno sobrepasa un campo.

Figura M-10. Necrosis.Meningioma meningotelial (x 20)



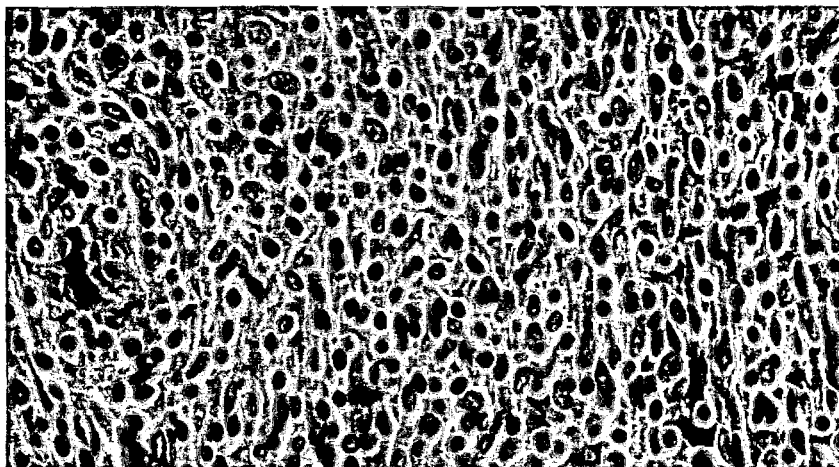
4.6.5. Pérdida de la arquitectura (Tabla M.IX, Fig. M-11)

Tabla M.IX. Pérdida de la arquitectura (Gradación)

Puntos	Características histológicas
0	• Ausente
1	• Pérdida incipiente de la distribución lolular o fascicular
2	• Pérdida manifiesta de la distribución normal en la mayoría del tumor. Cada área ocupa uno o dos campos contiguos.
3	• Areas múltiples y confluentes de desarreglo celular, cada una de las cuales ocupa varios campos contiguos.

Significa la pérdida total o parcial de la distribución celular normal en espirales concéntricas del meningioma meningotelial; o de las bandas de intersección de las células meningoteliales que se observan en el típico meningioma fibroblástico.

Figura M-11. Pérdida de la arquitectura. Meningioma transicional (x 40)



4.6.6. Invasión del parénquima cerebral (Tabla M.X)

Tabla M.X. Invasión del parénquima cerebral (Gradación)

Puntos	Características histológicas
0	• Ausencia de invasión. Puede existir parénquima cerebral adherido al tumor, pero separado por una fina capa de leptomeninges comprimidas.
1	• Masas redondeadas de tumor contactan directamente con el tejido cerebral.
2	• Gruesos cordones de células neoplásicas infiltran el parénquima, atrapando islotes de tejido neuroglial.

De acuerdo con estos criterios, existirían tres grados histológicos en los meningiomas (Tabla M.XI.).

Tabla M.XI.. Clasificación de los meningiomas por grados de malignidad (Mahmood 1993).

Grados	Tipos	Puntos
1	Benigno	0-4
2	Atípico	5-11
3	Anaplásico	> 11

Para la simplificación en el texto, los meningiomas benignos los definiremos de grado I y los atípicos y anaplásicos conjuntamente, de grado II.

4.7. SEGUIMIENTO DE LOS PACIENTES

En el momento de finalizar este estudio (marzo de 1995) se han considerado dos categorías: los pacientes vivos y los pacientes fallecidos.

En cada categoría se incluyen dos subgrupos: los casos con recidiva y los que no han recidivado (Tabla M.XII)

Tabla M.XII. Categorías de pacientes en el momento que finalizó el estudio.

Categorías	Subcategorías
1. Vivos	• Vivos sin recidiva • Vivos con recidiva
2. Fallecidos	• Muertos por recidiva • Muertos sin recidiva (otras causas).

4.8. METODOLOGÍA DEL ESTUDIO DEL DNA MEDIANTE CITOMETRÍA DE FLUJO. PLOIDIA.

De los 100 tumores recogidos para este estudio se han analizado, mediante citometría de flujo, un total de 82 casos. De los 10 casos recidivados, hemos analizado 4 (5 histogramas). Se desestimaron 18 casos del total porque en sus histogramas se obtenían unos "coeficientes de variación" de la fase G0/G1 superiores a 10 considerándolos poco fiables. En la mayoría de estos casos, se comprobó que las preparaciones histológicas estaban en mal estado.

El citómetro usado ha sido un EPICS PROFILE II (Coulter Electronics, Inc., Hialeah, Florida), instalado en el Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínic i Provincial de Barcelona.

Todos los histogramas se han analizado con el programa "multicycle" incorporado al citómetro.

4.8.1. Método de Hedley modificado

Hemos usado el método de Hedley,¹³⁴ modificado, cuya metodología básica es como sigue:

A- Corte del bloque de parafina a 50 μ m de grueso.

B- Desparafinización en tubo de vidrio con xilol (5 ml) y se deja reposar durante 20 ". Eliminación del xilol por decantación, con cuidado para no perder tejido. Se repite este paso hasta 5 veces.

C- Adición de 5 ml de alcohol etílico absoluto y se decanta. Este lavado se realiza 3 veces.

D- Hidratación de la muestra añadiendo al tubo las cantidades de agua necesarias para conseguir secuencialmente las concentraciones convenientes de alcohol. Se añaden 160 μ l de agua para obtener alcohol de 95% y se deja durante 2'.

Añadir 1.13 ml de agua para obtener alcohol de 70% y se deja 2'.

Añadir 1.71 ml de agua para obtener alcohol de 50% y se deja 2'.

Se decanta y se añaden 5 ml de agua destilada. Se decanta y se repite este lavado con agua tres veces. Se deja con agua destilada durante 24 horas.

E- Trituración de la muestra con hojas de bisturí hasta conseguir una pasta bien fina.

Se recoge la pasta con el filo del bisturí, se pasa a un tubo Eppendorf y se añade 1 ml de pepsina al 0.5% en solución salina al 0.9% (suero

fisiológico) con el pH ajustado a 1.3-1.5 con ácido clorhídrico 1 N. (Es necesario limpiar bien la placa de Petri y el bisturí para evitar la contaminación de la muestra con fragmentos de la anterior).

Agitarlo bien con Mixer e incubarlo en baño de agua a 37° C durante el tiempo que haga falta según el tejido que se procese, con agitación con Mixer cada 15 minutos.

Cuando el tiempo de incubación ha finalizado, se retiran los tubos del baño, se agitan con Mixer y se centrifugan durante 10' a 2000 rpm.

Descartar el sobrenadante con una pipeta Pasteur y resuspender el sedimento en 1 ml de solución de Ioduro de Propidio y RNasa diluida 1/10 con PBS (Phosphate Buffer Saline). Agitar con Mixer, cubrir con papel de aluminio y dejarlo a temperatura ambiente durante 30'. Incubarlo en nevera a 4° C hasta el día siguiente.

F- Filtrado con malla de nylon de poro de 50 μ m y seguidamente se pasa la muestra por el citómetro.

4.8.2. Solución stock de Ioduro de Propidio y RNasa (Tabla M.XIII)

Tabla .XIII. Componentes que forman parte de la solución usada como fluorocromo para teñir el DNA.

Componentes	Cantidades	
Agua destilada	250	ml
Citrato sódico 2H ₂ O	250	mg
TRIZMA	15.125	mg
Nonidet P 40	250	μl
Ioduro de Propidio	104	mg
Tetracloruro de Espermina	420.5	mg
RNasa	7.5	mg

De esta solución se hacen alíquotas y se guardan en el congelador.

El agua destilada, el citrato sódico y el TRIZMA [tris (hidroxi-metil) amino metano tris clorhídrico] se usan como tampones. El Nonidet se usa como un detergente que permeabiliza la preparación para que el Ioduro de Propidio, usado como fluorocromo, pueda teñir el DNA. El Tetracloruro de espermina es un conservante de la estructura del DNA.

4.9.TÉCNICA DE LOS AGNOR

Se han analizado 93 casos. De las 10 recidivas se analizaron 7 casos (8 determinaciones=1 recidiva doble). Hemos usado el método de Crocker.⁷⁸

A. Solucion de trabajo

- Preparar una solución de ácido fórmico en agua destilada al 2%.
- Con la solución anterior, preparar una nueva solución de gelatina al 1% (Solución A).
- Preparar una solución acuosa de nitrato de plata al 50% (Solución B).
- La solución de trabajo se obtiene mezclando 1 volúmen de la solución A con 2 volúmenes de la solución B.

B. Hematoxilina de Mayer

Proceder de la siguiente forma:

1. •Obtener secciones en parafina a 3-4 micras.
2. •Fijar las secciones obtenidas en estufa a 56° C durante 30 minutos.
3. •Dejar enfriar las laminillas a temperatura ambiente.
4. •Desparafinar e hidratar del siguiente modo:
 - Sumergir las laminillas en xilol, 5', dos veces.
 - Sumergir las laminillas en alcohol absoluto, 5', dos veces.
 - Sumergir las laminillas en agua destilada, 5', una vez.
5. •Sumergir las laminillas en la solución de trabajo, 1 hora, a temperatura ambiente.
6. •Lavar con agua destilada.
7. •Contrastar con hematoxilina de Mayer (tinción de fondo), durante 1'.
8. •Deshidratar y montar, del siguiente modo:
 - Sumergir las laminillas en alcohol absoluto, 5', dos veces.
 - Sumergir las laminillas en xilol, 5', dos veces.
 - Montar en DPX.

C. Interpretacion de las laminillas

(1) No deben quedar restos de nitrato de plata en el fondo (ausencia de precipitados o tinción de fondo).

(2) Contar 200 núcleos a 1000 aumentos, escogiendo 20 campos distintos y contando 10 núcleos en cada uno de los campos.

(3) Obtener la media aritmética.

(4) En los tumores con aspecto heterogéneo, se escoge la zona de mayor densidad celular y que muestre mayor atipia.

(5) El conteo fue realizado por dos personas distintas, sin que tuvieran conocimiento de la evolución clínica de los casos, obteniéndose una variabilidad de los resultados de menos del 3%.

4.10. ANALISIS ESTADISTICO

Para el tratamiento estadístico de los datos se usaron las siguientes técnicas:

1. **Prueba de Chi Cuadrado** para analizar tablas de contingencia como método para el contraste de la hipótesis de independencia entre dos variables categóricas. ^{100, 231}

2. **Prueba de la t de Student** para comparar las medias de variables cuantitativas entre dos categorías o grupos con datos independientes, y analizar, por tanto, la relación de la variable categórica que crea los grupos con la variable cuantitativa considerada.^{231,311} Cuando la distribución de los datos no se ajustó a la normal, se empleó la **prueba no paramétrica "U" de Mann Whitney**.

3. **Prueba del análisis de la varianza** para comparar las medias de variables cuantitativas entre más de dos categorías o grupos con datos independientes, y analizar, por tanto, la relación de la variable categórica que crea los grupos con la variable cuantitativa considerada.^{231,311} Los grupos fueron comparados entre sí por el método de Scheffé cuando el análisis de la varianza detectó diferencias estadísticamente significativas globalmente. Si no se cumplían los criterios de aplicación (especialmente si la distribución de los datos no se ajustaba a la distribución normal) se utilizó la **prueba de Kruskal Wallis**.¹⁹²

4. **Prueba de Kolmogorov-Smirnov.**³¹¹ Para establecer la aplicabilidad de la prueba de la *t de student* se estudió la normalidad de las variables cuantitativas mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov.

5. **Prueba de correlación** para estudiar la asociación entre dos variables continuas. En caso de existir una variable dependiente, se intentó ajustar una recta de regresión. Si no se cumplían los criterios de aplicabilidad de la prueba, se empleó la correlación de Spearman.

6. **Método de regresión logística** para estimar los factores de riesgo relacionados con la recidiva y evaluar el "riesgo relativo" ajustado para cada factor.

7. **Método de Kaplan-Meier.** Se estima la tasa de abandonos durante el seguimiento mediante tablas de supervivencia. Se establecen comparaciones entre grupos de pacientes mediante el estadígrafo de Mantel-Cox. Se han realizado análisis de supervivencia a recidivas, según distintas variables.

El nivel de riesgo α para todos los contrastes de hipótesis es del 0.05 y los contrastes se plantean a nivel bilateral, lo cual equivale a identificar la hipótesis nula con la igualdad de medias ó porcentajes, y la hipótesis alternativa con la desigualdad de los mismos.

Los cálculos se han realizado en el sistema VAX de Digital Equipment Corporation instalado en el Institut Municipal d'Investigació Mèdica de Barcelona, mediante los paquetes estadísticos SPSS y BMDP.⁹²

RESULTADOS

5. RESULTADOS

*"No quieras saber lo que para mí o
para tí preparan los dioses".*

Horacio: Odas

5.1. CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS

5.1.1. Edad y Sexo

En nuestros 100 pacientes hemos hallado predominio en las mujeres, acentuándose esta diferencia en el raquis (Tabla R.I).

La media de edad fue de 55.1 años (14-83). IC 95 %.

La edad media, por sexos, mostró un ligero predominio en los hombres.

Tabla R.I. Relación por sexo y edad de 100 meningiomas.

Sexo	Nº	Raquis	Edad
Mujer	63	22	54.7
	R: 1.7/1	R: 2.8/1	
Hombre	37	8	53.6

5.1.2. Cirugía

La extirpación fue macroscópicamente total en todos los casos, según estimación del neurocirujano. Aplicando los grados de extirpación de Simpson, 18 casos fueron del grado I y 82 del grado II.

Excluimos, como ya hemos mencionado, los meningiomas extirpados subtotalmente, es decir los del tipo IV y V, y también los del grado III pues aunque algunos de este grupo nos consta podrían incluirse en el grado II, la falta expresa de descripción en la hoja operatoria de la coagulación de la implantación dural nos ha llevado a desestimarlos.

5.1.3. Clínica

La distribución del número de casos en su categoría clínica se muestra en la tabla R.II

Tabla R.II Relación de pacientes en su categoría clínica (N=97)		
Sintomatología principal al ingreso	Número de pacientes	Porcentaje (%)
Crisis epilépticas	25	25.8
Crisis + déficit neurológico	8	8.2
Hipertensión endocraneal	3	3.1
Hipertensión e. + déficit	11	11.3
Déficit	50	51.5

Observamos que el grupo más frecuente es el que presentaba un déficit establecido ; ésto es así porque quedan incluidos los 30 casos de meningiomas raquídeos, cuya principal semiología era el déficit neurológico, predominando la paraparesia. Es importante hacerlo notar, dado que como factor pronóstico de los meningiomas craneales se da el déficit neurológico.³⁰²

5.1.4. Localización

De los meningiomas craneales, la convexidad fue la localización más frecuente.

De los meningiomas raquídeos, 28 eran dorsales y 2 cervicales.

La distribución de las localizaciones puede observarse en la tabla R.III. Hubo dos meningiomas craneales sin localización precisa.

Tabla R.III. Localización de los meningiomas (N=98).

Localización	Número de pacientes	Porcentaje (%)
Craneales	68	69.4
•Convexidad	37	37.8
•Parasagital	13	13.3
•Basal	13	13.3
•Fosa posterior	5	5.1
Raquídeos	30	30.6
•Dorsal	28	28.4
•Cervical	2	2.2

5.1.5. Tipo Histológico

De 99 casos considerados hay un gran predominio de meningoteliales y transicionales, que en conjunto representan el 80.8 % del total (Tabla R.IV). El caso n° 26 no pudo reevaluarse histológicamente .

Tabla R.IV. Representación del número de casos según su histología.

Tipos histológicos	Casos	
	n	%
Meningotelial	49	49.5
Transicional	31	31.3
Fibroblástico	8	8.1
Psamomatoso	8	8.1
Angiomatoso	2	2
Hemangiopericítico	1	1

5.1.6. Necrosis

Sobre 99 casos analizados, 14 (14.1%) presentaban algún grado de necrosis.

5.1.7. Grado

Se observó un gran predominio de los meningiomas benignos con casi el 90%. De meningiomas malignos (anaplásicos) solo tuvimos un caso (n° 8), que correspondía al único meningioma hemangiopericítico (Tabla R.V). En total, pues, de grado II había 10.

Tabla R.V. Porcentaje de casos, en relación al grado de malignidad.

Grado	Número de casos	Porcentaje (%)
1. Benigno	89	89.9
2. Atípico	9	9.1
3. Anaplásico	1	3.1
Total	99	

5.1.8. Estado

De los 100 pacientes, 80 están vivos en la actualidad, 7 con recidiva. Los 20 restantes han fallecido, tres por recidiva (Tabla R.VI).

Tabla R.VI. Estado de los pacientes al final del estudio.

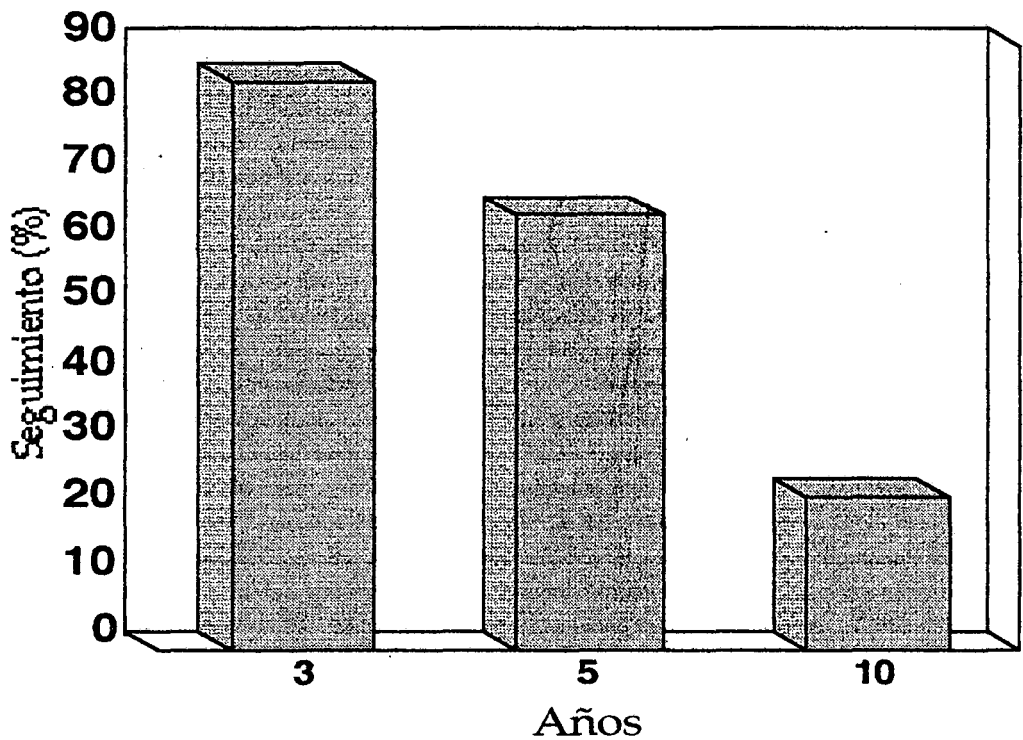
Estado	Nº pacientes	Sin recidiva	Recidiva
Vivos	80	73	7
Fallecidos	20	17 *	3 **
Total	100	90	10

(*) fallecidos por diversas causas.(**) fallecidos como consecuencia del tumor.

5.1.9. Seguimiento medio

El tiempo medio de seguimiento ha sido de 86 ± 43 meses (12-180). A los tres, cinco y diez años de la intervención quirúrgica fueron seguidos el 85%, el 65% y el 23% de los pacientes, respectivamente (Fig. R-1).

Figura R-1. Representación del porcentaje de pacientes seguidos a lo largo de los años. En el eje de las abscisas se representan los años. En el de ordenadas, el número de pacientes que se siguieron a los 3(85%), 5 (65%) y 10 (23%) años.



5.1.10. Ploidía

Los resultados de la distribución del DNA, medidos por citometría de flujo, se reflejan en la tabla R.VIII

Tabla R.VIII.Distribución de los meningiomas según datos de citometría de flujo
(N= 82).

Ploidía	nº casos	%	DI†	PI‡
Diploides	66	80.5		13.08±3.5
Aneuploides	16	19.5	1.61±0.32	16.44±7.5
<i>Total</i>	82			<i>p= 0.1</i>

†DI = Índice de DNA .

‡PI = Índice de proliferación (G2M+S).

Los valores de ambos son los valores medios ± desviación standard, con un índice de confianza (IC) del 95%.

La mayoría de histogramas fueron diploides cuyos PI fueron inferiores a los de los casos aneuploides.

5.1.11. AgNORs.

Se han evaluado los AgNOR en 93 casos. El valor medio hallado ha sido de 1.71 ± 0.21 (1.27-2.30), IC 95%.

5.1.12. Recidivas

En la tabla R.IX se representan el número de recidivas en relación al grado y a la localización.

Han recidivado 10 meningiomas, 8 craneales y 2 raquídeos, lo que representa un porcentaje global de recidivas del 10%. Considerándolos separadamente, los craneales han recidivado un 11.4% y los raquídeos un 6.7%.

De las 10 recidivas, el 70 % eran meningiomas benignos y el 30 %, atípicos ó anaplásicos.

El tiempo medio desde la intervención hasta la recidiva fue de 42.9 meses (16-84), IC 95%.

Tabla R.IX. Representación de las recidivas con la localización y el grado.

Localización	Recidivas	
	Número de casos	Porcentaje(%)
Grado		
Craneales	8	11.4
Raquídeos	2	6.7
Grado I (*)	7	7.9
Grado II (**)	3	30

(*)grado I, incluye los meningiomas benignos.

(**) grado II, incluye los meningiomas atípicos y anaplásicos.

5.2. FACTORES DE RECIDIVA

5.2.1. Edad

En el momento de la intervención, la edad media de los casos que no recidivaron fue de 54.58 ± 15.58 años y en las recidivas fue de 59.70 ± 9.20 años. La diferencia no fue significativa ($p=0.147$).

5.2.2. Sexo

La recidiva fue similar en hombres, 3 casos (8%) y en las mujeres, 7 casos (11%), $p=0.74$.

El riesgo relativo (RR) para la recidiva de las mujeres con respecto a los hombres (sin ajustarlo respecto a otras variables), fue de 1.42. El RR ajustado con las variables de edad, grado y PI fue de 2.04 ($p=0.38$).

5.2.3. Localización

5.2.3.1. Localización y Recidiva.

Cuatro de 10 recidivas se localizaron en la convexidad, lo que representa una tasa de recidiva del 10.8% (4/37). Los parasagitales recidivaron un 30.8% (4/13) y un 6.7% los de raquis (2/30). No recidivó ningún meningioma de la base y de fosa posterior ($n=18$). (Tabla R.X)

La localización parasagital fue un factor de riesgo relacionado con la recidiva en nuestro caso, con un riesgo relativo (RR) de 3.67 en relación a los meningiomas de la convexidad, y un 6.2 respecto los del raquis ($p=0.05$). Las diferencias, consideradas todas las localizaciones, no fueron significativas ($p= 0.07$).

Tabla R.X. Recidivas en relación a la localización. El mayor porcentaje de recidivas se dió en la región parasagital.

Localización	Nº de casos	Recidiva	
		nº casos	%
Convexidad	37	4	10.8
Parasagital	13	4	30.8
Basal	13	0	0
Fosa posterior	5	0	0
Raquis	30	2	6.7
Total	98	10	

Si agrupamos las dos localizaciones con más recidivas (convexidad+parasagital), el porcentaje de recidivas fue del 16% contra el 4.2% de las otras localizaciones consideradas en su conjunto. ($p=0.09$). Tabla R.XI

Tabla R.XI. Relación entre la localización con más recidivas y el resto. $p= 0.09$

Localización	Recidivas	
	nº casos	(%)
Convexidad+Parasagital (n=50)	8	16
Resto (n=48)	2	4.2

Al comparar la tasa de recidiva de los meningiomas craneales y raquídeos observamos que hay una diferencia a favor de los craneales (11.4% y 6.7% respectivamente), aunque no ha sido estadísticamente significativa ($p=0.71$).

5.2.3.2. Localización y Grado.

La relación de la localización con el grado se muestra en la tabla R.XII.

Hemos hallado 10 casos de meningiomas de grado II. Su mayor incidencia (70 %) fue en la convexidad, lo que representa un 18.9% del total de tumores de esta localización; el 10% (1 de 10) fue parasagital, un 7.7% de los meningiomas parasagitales fueron de alto grado; otro 10% se localizó en la base (el 8.3% de los meningiomas de la base fueron de alto grado) y el restante 10% en el raquis (solamente el 3.3% de los raquídeos fueron de alto grado).

Tabla R.XII. Relación del grado de malignidad con la localización.

Localización	Nº de casos	Grado II†	
		nº casos	(%)
Convexidad	37	7	18.9
Parasagital	13	1	7.7
Basal	12	1	8.3
Raquis	30	1	3.3
Total	92	10	($p=0.03$).

† Grado II= Atípicos + Anaplásicos (malignos).

Si agrupamos las localizaciones con mas recidivas (TablaR.XIII) comparándolas con las restantes en relación al grado II, observamos que el 16% de los meningiomas de la convexidad + parasagital fueron de grado II, por tan solo un 4.3% de las otras localizaciones (Mantel-Haenszel= 0.05); Test de Fisher, two tail (p=0.09). El riesgo relativo (RR) de la localización (convexidad+parasagital) respecto de las otras fue de 4.28.

Comparando la localización craneal con la raquídea hubo un gran predominio de los meningiomas de grado II en los craneales (13.4%) respecto a los raquídeos (3.3%), aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas (p=0.16). (TablaR.XIV)

El riesgo relativo de los craneales respecto los raquídeos fue de 4.5 (RR=4.5)

Tabla R.XIII. Relación del grado II con la localización con más tasa de recidivas (p= 0.09)

Localización	Nº total de casos	Grado II	
		n	%
Convexidad+ Parasagital	50	8	16
Otras	47	2	4.3
<i>Total</i>	97	10	

Tabla R.XIV. Relación del grado II con la localización (craneales y raquídeos).

Localización	Nº total de casos	Grado II	
		n	%
Craneales	67	9	13.4
Raquídeos	30	1	3.3
<i>Total</i>	97	10	p=0.16

5.2.3.3. Localización e Histología.

Las distintas localizaciones y su histología se muestran en la tabla R.XV.

Tabla R.XV. Relación de la localización con los tipos histológicos (n= 97).

Localización	Tipo histológico	Nº de casos	(%)
Convexidad (n=37)	Meningotelial	14	37.8
	Transicional	14	37.8
	Fibroblástico	3	8.1
	Psamomatoso	3	8.1
	Angiomatoso	2	5.4
	Hemangiopericítico	1	2.7
Parasagital (n=13)	Meningotelial	8	61.5
	Transicional	3	23.1
	Fibroblástico	2	15.4
Base (n=12)	Meningotelial	4	33.3
	Transicional	7	58.3
	Psamomatoso	1	8.3
Fosa posterior (n=5)	Meningotelial	2	40
	Transicional	1	20
	Fibroblástico	2	40
Raquis (n=30)	Meningotelial	19	63.3
	Transicional	6	20.3
	Fibroblástico	1	3.3
	Psamomatoso	4	13.3

En la convexidad, región parasagital, base y raquis predominaron los meningoteliales y transicionales. La mayor incidencia de fibroblásticos se dió en la fosa posterior y los psamomatosos en el raquis.

Hemos considerado conjuntamente los tipos que más recidivaron (meningotelial+fibroblástico) y los hemos comparado con: las localizaciones con más recidivas (convexidad+parasagital), con las demás localizaciones y con la localización en el cráneo y en el raquis, hallando muy pocas diferencias [$p=0.68$, $RR=1.25$ (Tabla R.XVI)].

Tabla R.XVI. Distribución, por localizaciones, de los tipos histológicos con más recidivas(meningotelial+fibroblástico).

Localización	Tipos histológicos (meningotelial+fibroblástico)	
	nº de casos	(%)
Convexidad+Parasagital (n=50)	27	54
Resto (n=47)	28	59.5
Cráneo (n=67)	35	52.1
Raquis (n=30)	20	66.6
$(p= 0.68)$		

5.2.3.4. Localización y Ploidia.

Se han analizado 82 casos con citometria de flujo; 16 casos han sido aneuploides (TablaR.XVII).

Dentro de los meningiomas craneales hemos hallado muy pocas diferencias en la distribución de los casos aneuploides, excepto en la fosa posterior, en que ningún caso fue aneuploide ($p= 0.06$).

La comparación entre la aneuploidía de los meningiomas craneales y raquídeos se expresa en la tabla R.XVIII. La aneuploidía en el raquis ha resultado mucho menos frecuente (4.8%) en comparación con el cráneo (25%), ($p=0.05$, $RR=6.67$).

Estos datos se correlacionan con la recidiva, ya que la tasa de recidiva de los raquídeos fue mucho menor.

Tabla R.XVII. Relación de la localización con la ploidía.

Localización	Diploides		Aneuploides	
	nº casos	%	nº casos	%
Convexidad (n=34)	26	76.5	8	23.5
Parasagital (n=12)	8	66.7	4	33.3
Basal (n=11)	8	72.7	3	27.3
Fosa posterior (n=4)	4	100	0	0
Raquis (n=21)	20	95.2	1	4.8
Total	66	80.2	16	19.8

Tabla R.XVIII. Tasa de diploidía y aneuploidía en los meningiomas craneales y raquídeos .

Se observa una diferencia significativa entre las tasas de aneuploidía de ambos grupos .

Localización	Diploides		Aneuploides	
	nº casos	%	nº casos	%
Craneales n=61	46	75	15	25
Raquídeos n=21	20	95.2	1	4.8
<i>Total n=82</i>				<i>(p=0.05)</i>

5.2.3.5. Localización (craneales-raquídeos) -Variables de ploidia.

Cuando comparamos los valores medios de los distintos parámetros de ploidia: índice de proliferación (PI) e índice de DNA (DI) entre los tumores craneales y raquídeos las diferencias no han sido significativas (Tabla R.XIX)

Tabla R.XIX. Relación de los parámetros de ploidía de los meningiomas aneuploides craneales y raquídeos.

Localización	PI ‡	DI †
Craneales (n=15)	13.86±4.67	1.58±0.32
Raquídeos (n=1)	13.10±5.10	1.93
<i>t-test (two tail)</i>	<i>p=0.55</i>	<i>p=0.31</i>

‡PI: Índice de proliferación (%G2M+S).

†DI: Índice de DNA. Se expresan los valores medios ± desviación standard.

5.2.3.6. Localización y AgNORs.

Las diferencias medias de los NOR entre los meningiomas craneales y raquídeos sí han sido significativas. (Tabla R.XX)

El valor medio de los AgNORs de los craneales fue superior al de los raquídeos ($p=0.01$).

Tabla R.XX. Relación de valores AgNORs entre los meningiomas craneales y raquídeos (N= 93).

Localización	AgNORs ‡
Craneales n=64	1.74±0.21
Raquídeos n=29	1.62±0.16

‡ Valor medio ± desviación standard.

Uno de los meningiomas recidivados del raquis (caso 71) poseía unos AgNORs de 1.87, el tercer valor más alto de esta localización; en cambio la otra recidiva del raquis (caso 75) fue el que tuvo el valor más bajo (1.40).

5.2.4. Histología

5.2.4.1. Histología y Recidiva

De los meningiomas clásicos, los que más recidivaron fueron los meningoteliales y fibroblásticos con valores muy parecidos. Ningún angiomatoso ni psamomatoso recidivó. Al incluir el hemangiopericitoma, las diferencias resultaron significativas (Tabla R. XXI).

En la tabla R.XXII. se muestran los resultados comparativos entre el grupo que más recidivó y el resto. Las diferencias no resultaron significativas ($p=0.15$).

Tabla R.XXI. Relación de los tipos histológicos con la tasa de recidiva.

Tipo histológico	Nº total de casos	Recidivas	
		n	%
Meningotelial	49	6	12.2
Transicional	31	2	6.5
Fibroblástico	8	1	12.5
Psamomatoso	8	0	
Angiomatoso	2	0	
Hemangiopericítico	1	1	100
<i>Total</i>	99	10	
<i>(p=0.05)</i>			

Tabla R.XXII. Relación de los meningiomas que más han
recidivado con el resto.

Tipo histológico	N° de casos	Recidivas	
		n	%
Meningotelial +	57	7	12.3
Fibroblástico			
Otros *	41	2	4.9
<i>Total</i>	98	9	(<i>p=0.15</i>)

(*) se excluye el hemangipericitoma.

Las recidivas en el raquis fueron todas meningoteliales. Los porcentajes de recidivas de este tipo histológico en el cráneo y raquis fueron muy similares (Tabla R.XXIII).

Tabla R.XXIII. Comparación de las tasas de recidiva de los meningiomas
meningoteliales en el cráneo y en el raquis.

Tipo histológico	Cráneo (n=28)		Raquis (n=19)	
	Recidivas		Recidivas	
	n	%	n	%
Meningotelial	4	14.3	2	10.5
<i>t-test : (p= 0.7)</i>				

5.2.4.2. *Histología y Grado.*

Se han analizado 99 tumores de 99 pacientes.

La gran mayoría de meningiomas fueron benignos (89.9%)

De los meningiomas clásicos, los transicionales fueron los que tuvieron mayor porcentaje de meningiomas atípicos y en cambio tenían un bajo coeficiente de recidiva. Por tanto, no hallamos relación entre el tipo histológico y las recidivas en cuanto al grado, pero las diferencias, al incluir el hemangiopericítico, resultaron significativas (Tabla R.XXIV). Cuando se excluye éste, las diferencias no fueron significativas (Tabla R.XXV).

Tabla R.XXIV. Relación entre los tipos histológicos y los grados.

Tipo histológico	Nº total de casos	Grado I †		Grado II ‡	
		n	%	n	%
Meningotelial	49	47	95.9	2	4.1
Transicional	31	25	80.6	6	19.4
Fibroblástico	8	7	87.5	1	12.5
Psamomatoso	8	8	100		
Angiomatoso	2	2	100		
Hemangiopericítico	1			1	100
<i>Total</i>	99	89	89.9	10	10.1
<i>(p=0.01)</i>					

† Grado I= Benigno.

‡ Grado II= Atípico+ Anaplásico.

Observamos que fueron los tipos histológicos con menos recidivas los que tenían más casos de grado II. No hubo relación entre el grado y los tipos histológicos (Test de Fisher-two tail, $p=0.15$).

Tabla R.XXV. Relación del porcentaje de grado II entre los meningiomas con mayor recidiva (meningotelial+fibroblástico) en comparación con el resto.

Tipo histológico	Nº total de casos	Grado I		Grado II	
		n	%	n	%
Meningotelial + Fibroblástico	57	54	94.7	3	5.3
Demás tipos	41	35	85.4	6	14.6
<i>Total</i>	98	<i>(p=0.15)</i>			

(*)El hemangiopericitoma se ha excluido.

5.2.4.3. Histología y Ploidía.

La relación de los tipos histológicos con la ploidía fue analizada en 81 casos. En el 19.8 % se halló aneuploidía (Tabla R.XXVI)

De 7 tumores fibroblásticos, 2 eran aneuploides, lo que representa el mayor porcentaje de aneuploidía si exceptuamos el 50% de los angiomatosos (sólo 2 casos). El caso recidivado de los meningiomas fibroblásticos era aneuploide y el único múltiple (caso n° 20) (Fig.R-2), exceptuando la NF-2; sin embargo el hemangiopericitoma, único tumor de grado 3, era diploide (caso n° 7) (Fig. R-3). Se hallaron pocas diferencias entre los distintos tipos, excepto en el angiomatoso, pero de éstos sólo tuvimos dos casos (Test de Pearson, $p=0.8$).

Tabla R.XXVI.Distribución de la ploidía en los diferentes tipos histológicos.

Tipos histológicos	N° de casos	Diploides		Aneuploides		PI ±
		n	%	n	%	
Meningotelial	40	32	80	8	20	14.50 ±4.71
Transicional	29	24	82.8	5	17.2	13.52 ±5.37
Fibroblástico	7	5	71.4	2	28.6	12.55 ±2.08
Psamomatoso	2	2	100	0		11.90 ±1.41
Angiomatoso	2	1	50	1	50	7.55± 0.35
Hemangiopericítico	1	1	100	0		15.20
<i>Total</i>	81	65	80.2	16	19.8	

±PI (G2M+S) = Índice de proliferación . Valor medio ± desviación standard.

Figura R-2. Histograma de un meningioma fibroblástico, aneuploide, múltiple y recidivado (caso n° 20).

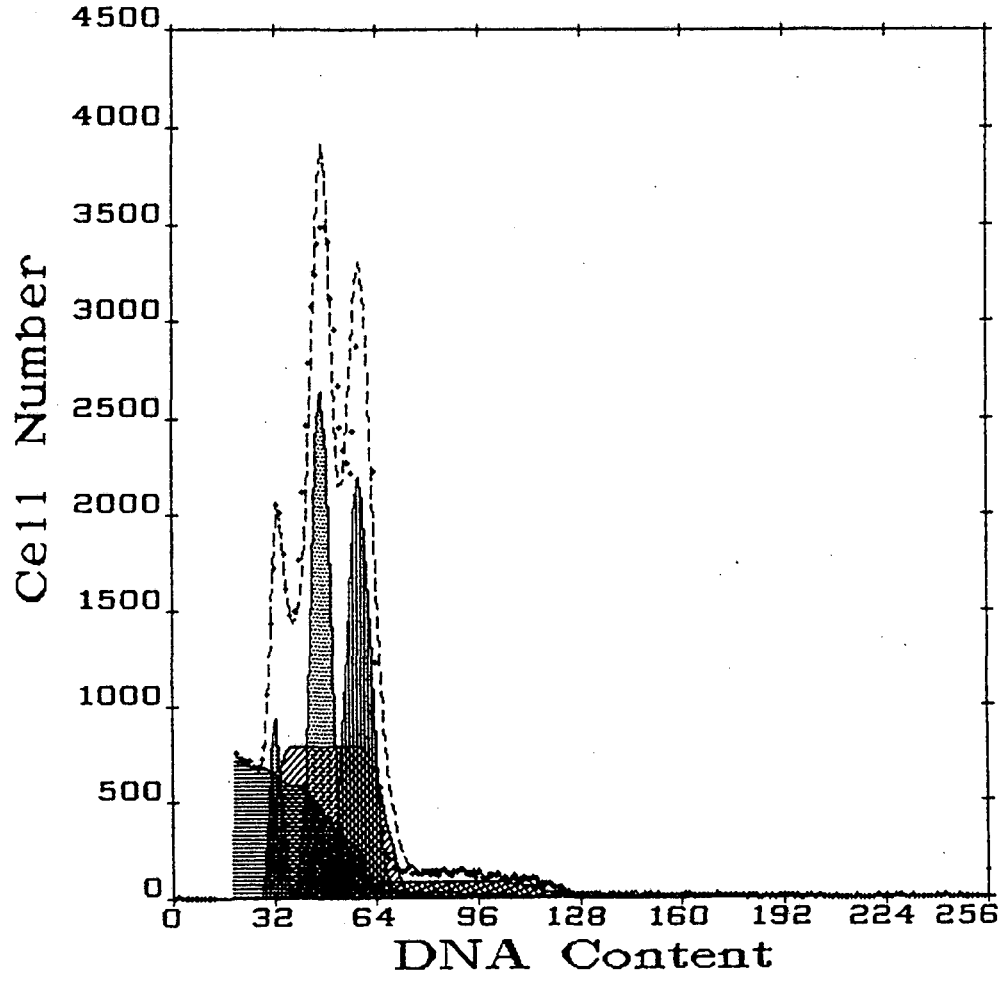
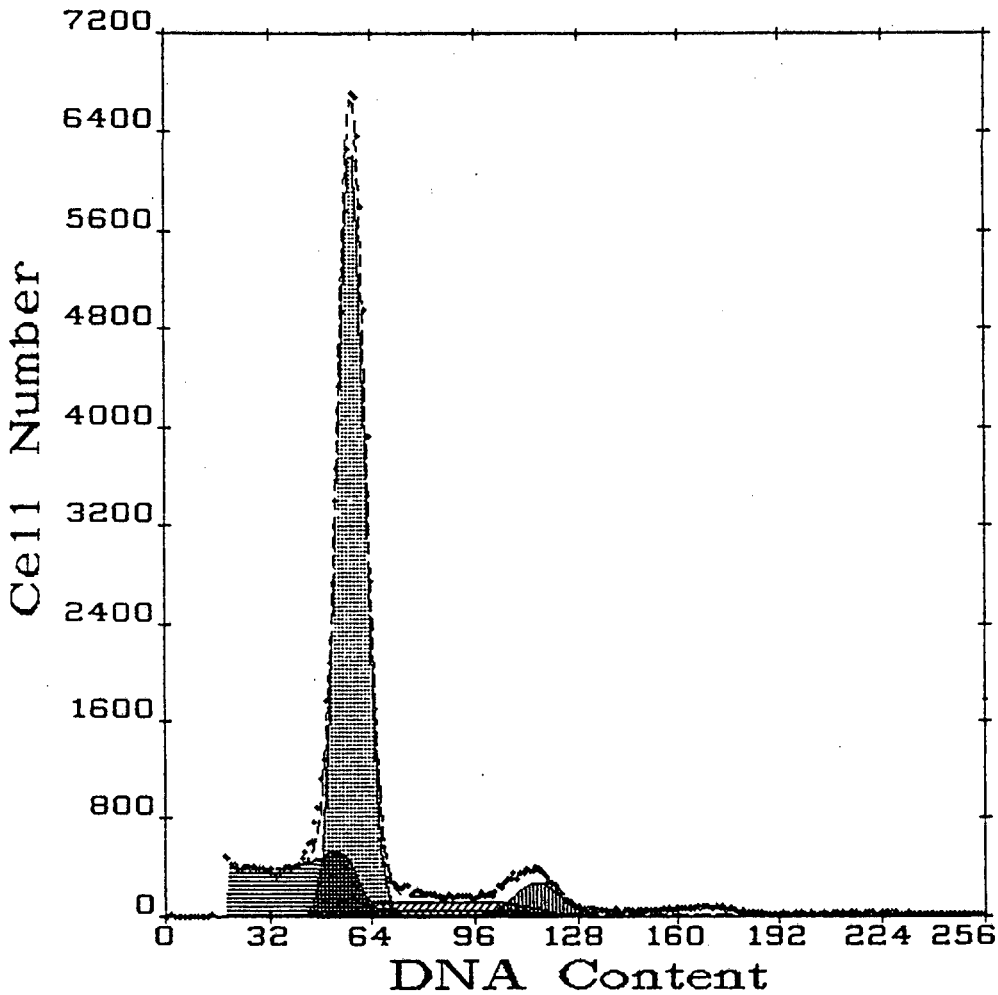


Figura R-3. Histograma del único hemangiopericitoma de la serie (caso n° 7). El pico diploide G0/G1 en el canal 32 es más ancho de lo habitual, pero el histograma es claramente diploide.



En la Tabla R.XXVII se comparan los porcentajes de ploidía entre los grupos histológicos con más recidivas y el resto. Las tasas de aneuploidía en los dos grupos han sido muy parecidas ($p= 0.7$)

Tabla R.XXVII.Comparativa de la ploidía entre los tipos histológicos con más recidivas(meningotelial+fibroblástico) con el resto.

Tipos histológicos	Nº total de casos	Diploides		Aneuploides	
		n	%	n	%
Meningotelial + Fibroblástico	47	37	78.7	10	21.3
Resto *	33	27	81.8	6	18.2
<i>Total</i>	80	64	80	16	20

(*) El hemangiopericitoma se ha excluido.

5.2.4.4. Histología y Necrosis.

Entre los distintos tipos histológicos que presentaban necrosis, no hubo grandes diferencias en los porcentajes de la misma, a excepción del hemangiopericítico (Tabla R.XXVIII). Las diferencias entre los distintos grupos de meningiomas clásicos han sido poco significativas ($p=0.12$).

Tampoco los grupos de mayor (meningotelial+fibroblástico) o menor recidiva (transicional + psamomatoso + angiomaso) variaban mucho sus porcentajes de necrosis (12.3% y 14.6%, respectivamente); en este caso, los que más recidivaron, excluyendo el hemangiopericítico, tenían menos necrosis que el resto (Tabla R. XXIX). Ninguno de los psamomatosos y angiomasos recidivó y tampoco tuvieron necrosis.

Tabla R.XXVIII. Relación de los tipos histológicos con la necrosis.

Tipo histológico	Nº total de casos	Necrosis	
		n	%
Meningotelial	49	6	12.2
Transicional	31	6	19.4
Fibroblástico	8	1	12.5
Psamomatoso	8	0	
Angiomaso	2	0	
Hemangiopericítico	1	1	100
<i>Total</i>	99	14	14.1

$(p=0.12)$

Tabla R.XXIX. Relación de necrosis entre los meningiomas con más recidivas (meningotelial+fibroblástico) y el resto .

Tipo histológico	Nº total de casos	Necrosis	
		n	%
Meningotelial	57	7	12.3
+			
Fibroblástico			
Otros *	41	6	14.6
<i>Total</i>	98	13	13.3
<i>(p= 0.7)</i>			

(*) El hemangiopericitoma se ha excluido

5.2.4.5. Histología-AgNORs.

Hubo pocas diferencias entre los valores de los meningiomas clásicos pero se observaron diferencias notables entre los valores de AgNORs de los psamomatosos, con el valor más bajo (1.47), el hemangiopericítico, con el valor más alto (2.30) y el resto (Tabla R.XXX).

Tabla R.XXX. Tipos histológicos y valores de AgNORs.

Tipo histológico	Nº de casos	AgNORs ‡
Meningotelial	48	1.73 ± 0.21
Transicional	27	1.70 ± 0.13
Fibroblástico	7	1.75 ± 0.27
Psamomatoso	8	1.47 ± 0.12
Angiomatoso	2	1.67 ± 0.20
Hemangiopericítico	1	2.30
<i>Total</i>	93	<i>Valor medio: 1.71 ± 0.21</i>
<i>(p < 0.05)</i>		

‡ Los valores son la media ± desviación standard.

Los tipos histológicos con más recidivas (meningotelial + fibroblástico) presentan valores medios de AgNORs superiores a los tipos histológicos asociados a menor tasa de recidiva (Tabla R.XXXI).

Tabla R.XXXI. AgNORs de los grupos histológicos con más recidivas (meningotelial + fibroblástico) comparado con el resto.

Tipo histológico	Nº de casos	AgNORs
Meningotelial + Fibroblástico	55	1.73 ± 0.21
Otros *	37	1.65 ± 0.16
<i>(p = 0.04)</i>		

(*) El hemangiopericitoma no se incluye

5.2.5. Clínica

5.2.4.1. Clínica-Recidiva

La relación de las distintas categorías clínicas con la recidiva se expresa en la tabla R.XXXII. Considerados todos los casos, la mayor incidencia de recidivas fue para los que debutaron con crisis + déficit. Los que se presentaron con déficit como único dato clínico recidivaron poco, tanto si se consideran todos los casos o solo los craneales (•). Los meningiomas raquídeos (••) tenían todos déficit establecido sin otra sintomatología de las consideradas y fueron los que menos recidivaron ($p=0.49$)

Tabla R.XXXII. Relación de la recidiva con la clínica.

Clínica	Nº de casos	Recidivas	
		n	%
Crisis comiciales	25	2	8
Crisis + Déficit neurológico	8	2	25
Hipertensión endocraneal	3	0	
H.E † + Déficit neurológico	11	2	18.2
Déficit establecido	50	4	8
• Excluyendo los raquídeos	20	2	10
•• Raquídeos solos	30	2	6.7

†H.E.: Hipertensión endocraneal

El estudio de regresión logística muestra un riesgo relativo para la recidiva de 3.83 y 2.56 veces mayor en los casos que tenían déficit añadido a crisis ó a hipertensión endocraneal respectivamente.

5.2.6. Cirugía

5.2.6.1. Cirugía-Recidiva

Hemos relacionado el grado de extirpación, según escala de Simpson, con la recidiva (Tabla R-XXXIII). En nuestro caso no ha sido un factor de recidiva. Todos los casos (n= 18) en los que se realizó extirpación dural (Gr. I) fueron de la convexidad o parasagitales y, no obstante, han recidivado un 11.1 %. En cambio, los casos en que solamente se realizó coagulación dural, han recidivado menos (10%).

Tabla R-XXXIII. Relación de los grados de extirpación de Simpson con la recidiva.

Grados de Simpson	Localización	Recidiva	
		n	%
I (n= 18) ‡	Convexidad	2	11.1
	Parasagital		
II (n= 82) †	Basal	2	4
	Fosa posterior		
	Raquis		
	n= 48		
	Convexidad	6	17.6
	Parasagital		
	n= 34		
Recidiva grado II = 10%			

‡Grado I = extirpación total del tumor + duramadre donde se implanta.

†Grado II = extirpación total del tumor + coagulación de la duramadre.

5.2.7. Necrosis

5.2.7.1. Necrosis y Recidiva.

Los datos que correlacionan la recidiva con la existencia de necrosis se detallan en la tabla R-XXXIV. Los casos en que en la histología había necrosis, recidivaron mucho más (28.6%) que los que no tenían necrosis (7.1%), y estas diferencias fueron significativas ($p=0.03$). El tiempo previsible para la recidiva, aplicando curvas de supervivencia de Kaplan Meier, fue menor para los meningiomas con necrosis ($p= 0.18$).

Tabla R-XXXIV. Relación de la necrosis con la recidiva.

Necrosis	Nº casos	Recidiva		Tiempo recidivas
		n	%	
No	85	6	7.1	51.5±24.4
Sí	14	4	28.6	30±20
Total	99	10		
		$(p= 0.03)$		$(p= 0.18)$

En el estudio de regresión logística, el riesgo relativo (RR) de los casos con necrosis, para la recidiva, fue de 5.27. El riesgo relativo (RR) ajustado para las variables de edad, sexo y PI, fue de 6.90 ($p=0.02$, IC 95% : 1.359-34.93).

5.2.7.2. Necrosis y Grado.

Hallamos una gran relación entre la necrosis y el grado histológico. Un 7.9% de los meningiomas benignos tenían micronecrosis, frente al 70% de los atípicos y malignos ($p= 0.00002$) Tabla R.XXXV.

Tabla R.XXXV. Relación necrosis-grado histológico.

Necrosis	Nº de casos	Grados			
		I †		II ‡	
		n	%	n	%
NO	67	52	77.6	15	22.4
SI	14	7	7.9	7	70
<i>Total casos</i>		89		10	
$p= <0.002$					

†Grado I = benignos.

‡Grado II = atípicos y malignos.

5.2.7.3. Necrosis y ploidía

No se ha observado correlación entre la aneuploidía y la existencia de necrosis. Al contrario, todos los casos que tenían necrosis, excepto uno (caso 45), fueron diploides (Tabla R.XXXVI).

Tabla R.XXXVI. Relación de casos diploides y aneuploides con la necrosis.

Necrosis	N° de casos	Ploidía			
		Diploides		Aneuploides	
		n	%	n	%
NO	67	52	77.6	15	22.4
SI	14	13	92.9	1	7.1
<i>Total</i>	81	65	80.2	16	19.8
(P= 0.28)					

5.2.7.4. Necrosis-AgNORs

Al igual que con la ploidía, se han relacionado los valores de AgNORs de los meningiomas con y sin necrosis (Tabla R.XXXVII). Los meningiomas con necrosis tenían valores de AgNORs más elevados que los que no la tenían ($p=0.003$)

Tabla R.XXXVII. Valores de AgNORs y necrosis.

Necrosis	Nº de casos	AgNORs †
NO	80	1.68 ± 0.19
SI	13	1.86 ± 0.24
$p= 0.003$		

† Valores medios $\pm$ desviación standard.

5.2.7.5. Necrosis-Localización (craneales-raquídeos)

En la tabla R.XXXVIII se relaciona la necrosis con la localización. Existe una diferencia notable entre ambos grupos. La necrosis se dio el triple en los meningiomas craneales ($p= 0.21$).

Tabla R.XXXVIII. Porcentaje de necrosis en los meningiomas craneales y raquídeos.

Localización	Nº total de casos	Necrosis	
		n	%
Craneales	67	12	17.9
Raquídeos	30	2	6.7
<i>Total</i>	99	14	

5.2.8. Grado.

5.2.8.1. Grado y Recidiva.

Hubo diferencias significativas ($p=0.004$) entre tasa de recidiva y grado histológico. De los grados 1, 2, y 3 recidivaron respectivamente el 7.9%, 22.2% y 100%.

También fueron casi significativas las diferencias entre los meningiomas de grados I y II ($p=0.06$, Mantel-Haenszel=0.02). Tabla R.XXXIX.

El estudio de regresión logística para el riesgo de recidiva, mostró para los meningiomas "no benignos" (grado II) un riesgo relativo ajustado para las variables de edad, sexo e índice de proliferación (PI) de 6.825 ($p=0.03$, IC 95%:1.126-41.39).

Para saber si el grado era un factor en cuanto al tiempo previsible de recidiva, aplicamos un modelo de regresión lineal, observando que, efectivamente, el grado y el tiempo de recidiva tienen una relación inversa. Los de grado I recidivarían en un tiempo medio de 52.7 ± 22.5 meses, y los de grado II en un tiempo medio de 20 ± 4 meses, $p=0.04$.

Tabla R.XXXIX. Relación del grado histológico con las recidivas.

Grado	Nº de casos	Recidivas		Tiempo de recidiva *
		n	%	
I †	89	7	7.9	52.7± 22.5
II ‡	10	3	30	20±4
Total	99	10		
			p=0.06	p= 0.04

I †=meningiomas benignos.

II ‡= meningiomas atípicos y anaplásicos

* Los valores son en meses.

5.2.8.2. Grado y Ploidia.

Se analizaron 81 casos mediante citometría de flujo para el estudio de la ploidia (Tabla R.XL). Vimos que los aneuploides predominaban en el grupo de los benignos por lo que, una vez más, la ploidia por sí misma, en comparación con otras variables, no ha resultado ser un factor de recidiva y, por tanto, de pronóstico en nuestra serie (p= 0.6). Los valores medios del PI fueron muy parecidos entre los dos grupos de malignidad.

Tabla R.XL.Relación entre la aneuploidía y el grado de malignidad..

Grado	Nº de casos	Aneuploides		PI ‡
		n	%	
I *	72	15	20.5	13.60±4.94
II **	9	1	11.1	14.46±3.01
Total	81	16		p = 0.42

(*) Grado I = benignos. (**) Grado II = atípicos y anaplásicos.

‡ PI= (%G2M+S)

5.2.9. Ploidia.

5.2.9.1. Ploidia y Recidiva.

En las recidivas hubo una mayor número de casos aneuploides (18.8%) respecto a los tumores no recidivados (10.6%), $p=0.4$.

Al aplicar el modelo de regresión logística, el riesgo relativo de recidiva fue de 1.95 para los aneuploides (no significativo).

5.2.9.2. Relación entre las variables de ploidia y recidivas .

En la tabla R.XLI se comparan las variables de ploidia medidas por citometría de flujo entre los tumores recidivados y no recidivados.

Se observó una clara tendencia a unos valores de PI superiores en los casos recidivados. En cambio el contenido de DNA celular (DI) de los tumores recidivados fue inferior a los no recidivados.

Tabla R.XLI. Valores de las variables de ploidía de los meningiomas: comparativa entre casos recidivados y no recidivados.

Recidivas	Variables de ploidía *		
	DI †	PI(% G ₂ M+S) ‡	PI(% S) f
SI	1.40 ± 0.25	16.36 ± 3.04	9.55 ± 3.88
NO	1.66 ± 0.32	13.35 ± 4.85	7.78 ± 4.76
	<i>p = 0.14</i>	<i>p = 0.06</i>	<i>p = 0.26</i>

† DI= Índice de DNA.

‡PI (G₂M+S)= Índice de proliferación expresado como la suma de las fases (G₂M+ S).

f PI(S)= Índice de proliferación expresado solo como fase S.

*Los valores son los valores medios ± desviación standard.

El índice de proliferación (PI) posee un riesgo relativo ajustado para las variables de edad, sexo y grado, en relación a la recidiva, de 1.128 (p=0.07, IC 95%: 0.9891-1.286). El PI ajustado para las variables de edad, sexo y necrosis es de 1.161 (p=0.03, IC 95%: 1.012-1.332).

5.2.10. AgNOR.

5.2.10.1. AgNOR y recidivas.

Los AgNOR se estudiaron en 93 casos. El valor medio fue de 1.71 (1.28 - 2.30). El número de AgNORs de los casos recidivados fue superior a los no recidivados, diferencias no significativas (Tabla R.XLII). Las diferencias fueron mínimas porque los valores de AgNORs son muy parecidos.

Tabla R.XLII. Relación de los valores de AgNORs con las recidivas y con el tiempo previsible de recidiva.

Recidiva	Nº de casos	AgNORs ±	Tiempo para la recidiva*
NO	85	1.70±0.20	40
SI	8	1.76±0.28	38
		<i>p= 0.39</i>	<i>p= 0.41</i>

(*)Los valores se estiman según un modelo de regresión lineal, aplicando tablas de Kaplan-Meier y están expresados en meses.

‡Los valores son los valores medios ± desviación standard.

5.2.10.2. AgNOR y Grado

Se hallaron diferencias significativas entre los valores de AgNOR de los grado (1 y 3) y (2 y 3) pero no entre los grados I y II (Tabla R. XLIII).

Tabla R.XLIII. AgNORs y grado histológico.

Grado	AgNORs	t- test
1. Benigno	1.70 ± 0.20	p= 0.004
3. Anaplásico	2.30	
2. Atípico	1.74 ± 0.14	p= 0.007
3. Anaplásico	2.30	
I. Benigno	1.70 ± 0.20	p= 0.13
II. Atípico + Anaplásico	1.80 ± 0.22	

El coeficiente de correlación entre grado y AgNOR fue significativo (p=0.03). r=0.22.

Comparamos los NORs de los casos recidivados y no-recidivados de los meningiomas benignos, no hallando diferencias significativas (Tabla R.XLIV). Los valores de AgNORs fueron superiores en los casos que no recidivaron.

Tabla R.XLIV. Valores de AgNORs en relación a la recidiva en los meningiomas benignos.

Meningiomas benignos (Grado I) n=83	AgNORs ±
Recidivas (n=5)	1.67 ± 0.21
No recidivas (n=78)	1.70 ± 0.20

±Los valores son la media ± desviación standard.

5.2.10.3. AgNOR y variables de ploidía.

Los coeficientes de correlación (r) entre los AgNOR y las variables de ploidía (DI, PI) no fueron significativos (p=0.32 y p=0.26). Se analizaron los casos en su conjunto y también por separado en grupos de tumores "no recidivados" y recidivados. En el grupo de las recidivas (n=8) hubo tendencia a la significación en relación inversa (p=0.07) entre el PI y los AgNORs.

Al agrupar los tumores en dos grupos respecto a un valor NOR= 1.80, que es el valor medio de los tumores de grado II, hallamos pocas diferencias en las tasas respectivas de aneuploidía (Tablas R.XLV y R.XVI). El grupo por encima de 1.80 presentó un ligero predominio de casos aneuploides.

Tabla R.XLV. Relación de los AgNORs con la ploidía (n=81).

AgNORs	Casos	Aneuploides	
		n	%
Gr.1 (≤ 1.80)	52	9	17.3
Gr.2 (> 1.80)	29	6	20

Tabla R.XLVI. Relación de los AgNORs y el Índice de Proliferación.

AgNORs	Casos	†PI (%G ₂ M+S)
Gr.1(≤ 1.80)	51	14.35 $\pm$ 4.38
Gr.2(> 1.80)	29	13.31 $\pm$ 5.14

† Valores medios $\pm$ desviación standard

Las diferencias son mínimas, pero también es mayor el % de PI en el grupo con menores AgNORs.

5.3. RECIDIVAS : ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE TUMOR ORIGINAL Y TUMOR RECIDIVADO.

5.3.1. Histología y Ploidia

Ni la ploidia ni el tipo histológico han variado en los tumores recidivados en relación al tumor original. Se han realizado histogramas de las recidivas en cuatro casos, analizándose 5 histogramas (1 caso presentó dos recidivas).

De las 10 recidivas se analizaron histológicamente 7 casos (8 registros); de los tres restantes, las recidivas fueron constatadas radiológicamente, dos no se intervinieron y la tercera fue intervenida en otro Centro.

5.3.2. Variables de Ploidia y AgNOR

Tanto los índices de proliferación y DNA como los AgNORs fueron mayores en las recidivas, aún cuando ninguno de los casos mostró mayor desdiferenciación histológica (Tabla R.XLVII).

Tabla R.XLVII. Diferencias observadas en los datos de citometría de flujo y AgNORs de los casos recidivados, entre el tumor original y el recidivado.

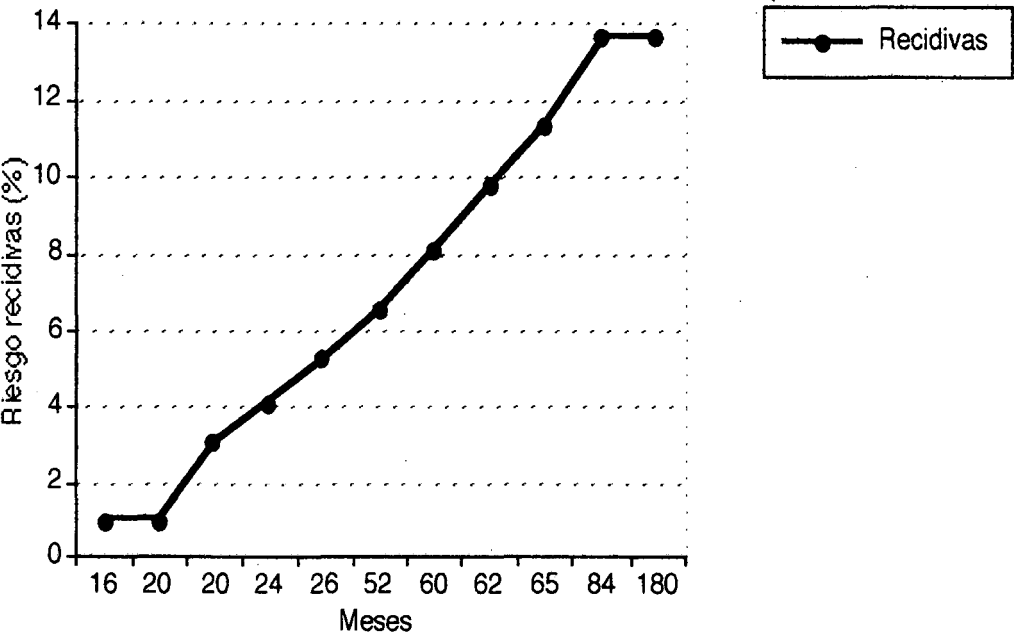
Tumores	DI	PI(%G ₂ M+S)	AgNORs
Original	1.40±0.25	16.36±3.04	1.76±0.28
Recidivado	1.68±0.21	16.15±5.88	1.87±0.33
	<i>p</i> =0.39	<i>p</i> =0.94	<i>p</i> =0.53

5.4. ANALISIS DEL RIESGO DE RECIDIVA EN EL TIEMPO

5.4.1. Global.

El riesgo de recidiva a los 3, 5 y 7 años fue de $5.3 \pm 0.02\%$, $8.18 \pm 0.03\%$ y $13.71 \pm 0.04\%$, respectivamente (los valores son la media $\pm$ error standard). A partir de esta fecha no recidivó ningún caso. Es decir, el riesgo acumulado de recidiva fue del 13.71% hasta el 7º año (figura R-4). Se representan los 10 casos recidivados y el porcentaje acumulado de recidiva (13.71%).

Figura R-4. Previsión de recidivas global en el tiempo.



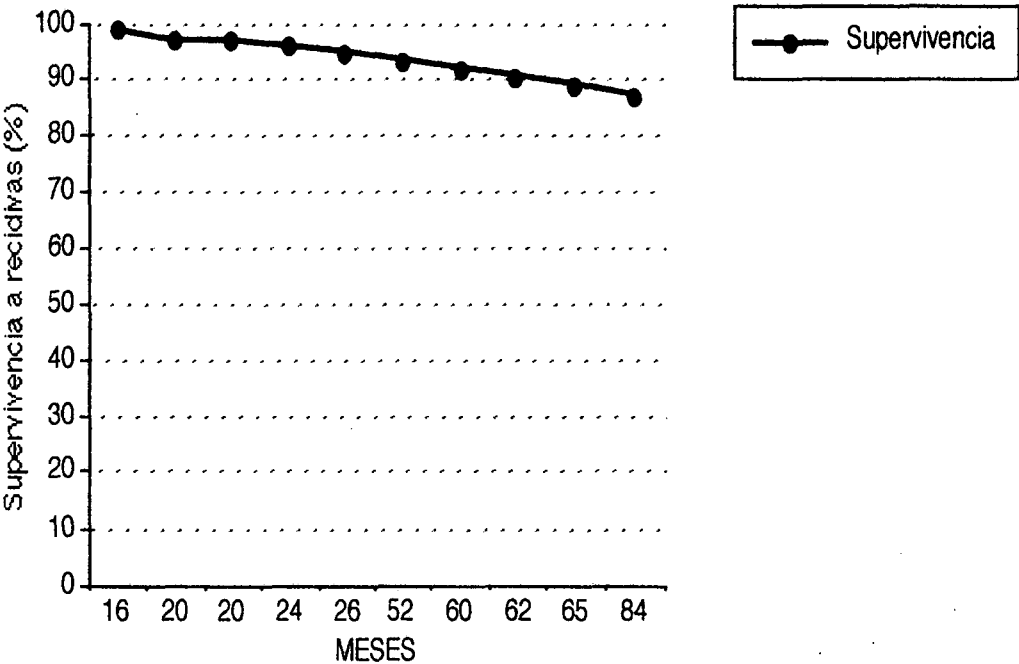
MEAN SURVIVAL TIME = 163.10 LIMITED TO 180.00 S.E.= 5.310
 SUMMARY TABLE

PROPORTION					
TOTAL	V con re.	M. rec.	V. sin	M otros	CENSORED
100	7	3	73	17	0.9000

PATTERN OF CENSORED DATA					
***** **** *** ***** ***** * *** * * *					
+.....+.....+.....+.....+.....+.....+.....+.....+.....+.....+.....+.....+					
	17.	50.	83.	117	150
					183
0.0	33.	67.	100	133	167
					200

En la figura R-5 se expresa el porcentaje acumulado de pacientes que sobreviven a la recidiva. En el eje de abscisas se representa el tiempo de recidiva y en el de ordenadas, el número de pacientes que van acumulándose sin recidivar, que sería del 87% a partir del 7º año.

Figura R-5 . Proporción de pacientes sin recidiva.



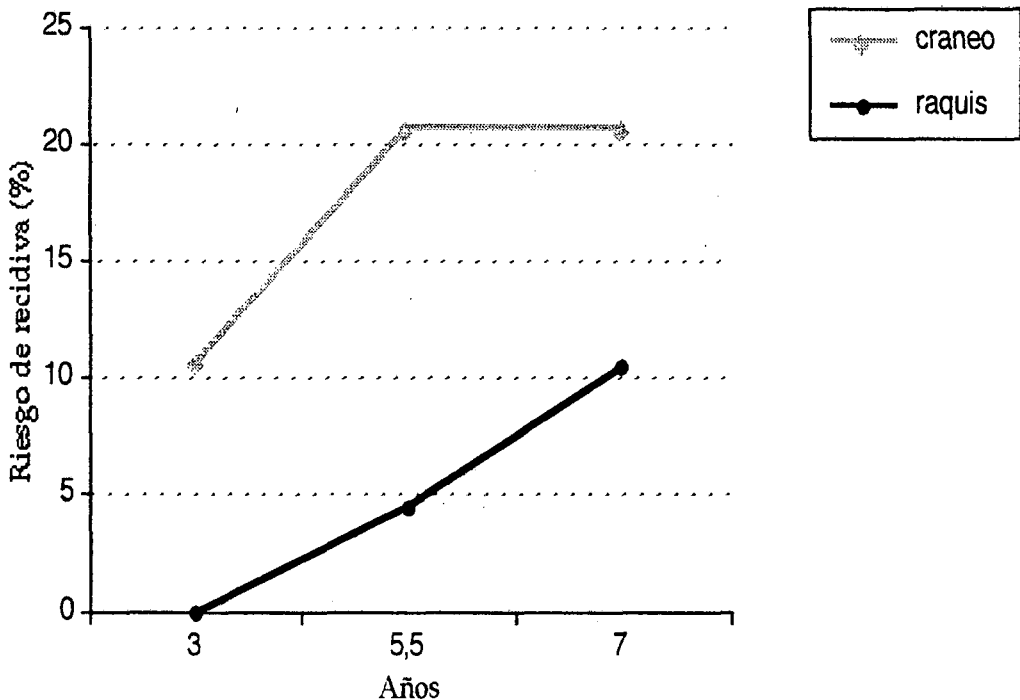
5.4.2. Por grupos de localización

CRANEALES (n=70). Los meningiomas craneales que recidivaron fueron de la convexidad y parasagitales (n=50). El riesgo de recidiva fue del $10.7 \pm 0.04\%$ a los tres años y del $20.7 \pm 0.07\%$ a los 5.5 años (65 meses).

RAQUIS (n=30). El riesgo de recidiva fue menor que en los craneales: el $4.5 \pm 0.04 \%$ a los 65 meses, y del $10.5 \pm 0.07\%$ a los 7 años (última recidiva).

Los meningiomas craneales recidivan más pronto y su riesgo acumulado de recidiva es el doble de los raquídeos, pero éstos tienen un riesgo más dilatado en el tiempo (hasta los 7 años). El poco número de casos limita la significancia estadística ($p= 0.06$), (figura R-6).

Figura R-6. Riesgo de recidivas por localización.



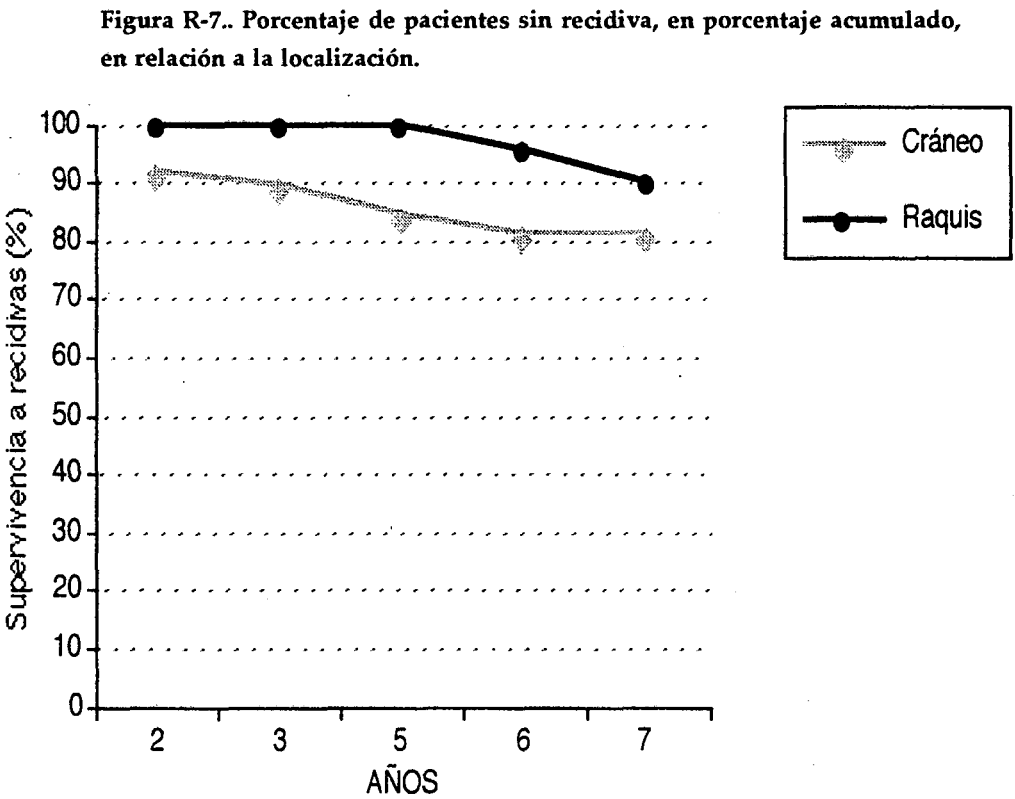
PATTERN OF CENSORED DATA

Conv/Par	*** **	*** **** *	***** * * * * *	* ***	*
Bas/Fpos	* * * * *	* * * *	**	* *	
Raquis	* * * * *	* * *	****	** * *	*
	+.....+	+.....+	+.....+	+.....+	+.....+
	17.	50.	83.	117	150
	0.0	33.	67.	100	133
					167
					183
					20

PATTERN OF TRUE RESPONSE TIMES

[illegible]

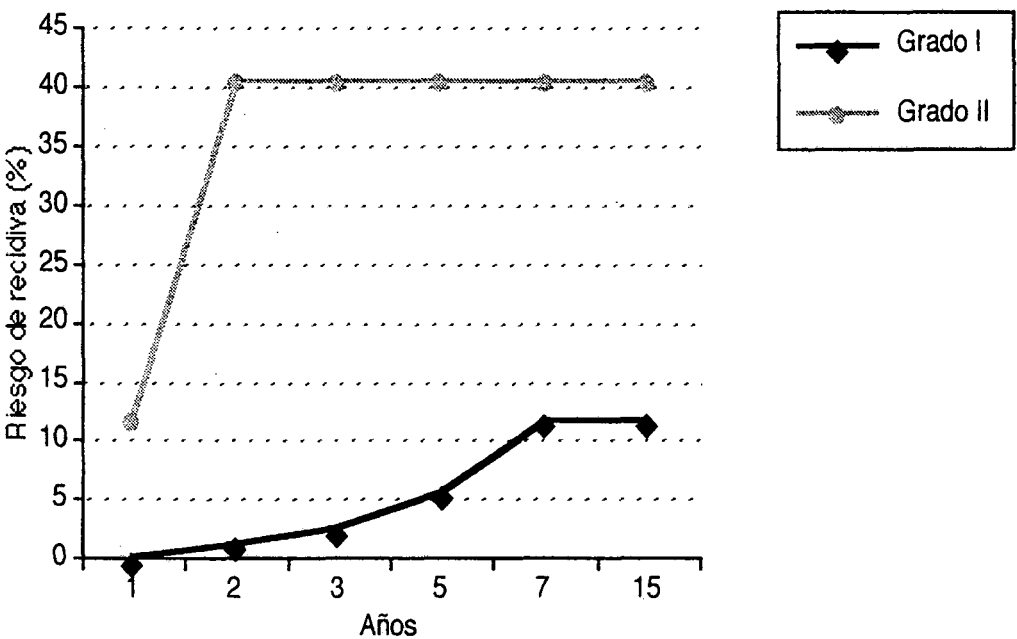
En la figura R-7 se relaciona el número de casos sin riesgo de recidiva, en función de la localización. El 100% de los meningiomas basales y de fosa posterior tendrían un riesgo nulo de recidiva. Los raquídeos tienen un menor riesgo de recidiva, por lo que sobreviven un $90 \pm 0.06\%$ a la recidiva y los de la conxidad y parasagitales tendrían una supervivencia a la recidiva del $81.3 \pm 0.06\%$.



5.4.3. Por grados

Los tumores de grado I (n=89) tienen un riesgo acumulado de recidiva del $2.4 \pm 0.01\%$, $5.5 \pm 0.02\%$ y $11.5 \pm 0.04\%$ a los 3, 5 y 7 años respectivamente. En los tumores de grado II (n=10) sería del $11.8 \pm 0.11\%$ en el primer año y del $40.5 \pm 0.23\%$ a los dos años (Figura R-8). Puede observarse una clara diferencia en el riesgo de recidiva entre los dos grupos. Los de grado II recidivan más pronto, dentro del primer año en 12%, y en un 40% en el 2º año. Los de grado I recidivaron a partir del 2º año y en una proporción al 7º año que no alcanza el 12% ($p= 0.006$).

Figura R-8. Relación de casos con riesgo acumulado de recidiva en función del grado histológico.



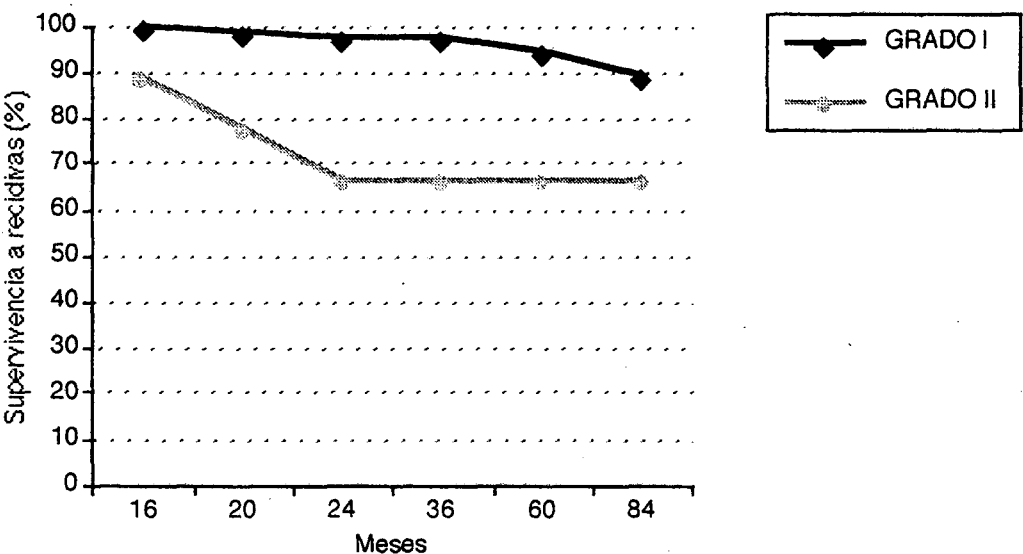
Gr.I = meningiomas benignos.

Gr.II= atípicos y malignos.

En la figura R-9 se representa la supervivencia a la recidiva.

A partir del 2º año, los meningiomas de grado II estabilizan su tasa de supervivencia a la recidiva, que se mantiene en un 66,7%. Los de grado I, tendrían una supervivencia a recidivas del 89%.

Figura R-9. Supervivencia a la recidiva en función de los grados de malignidad.



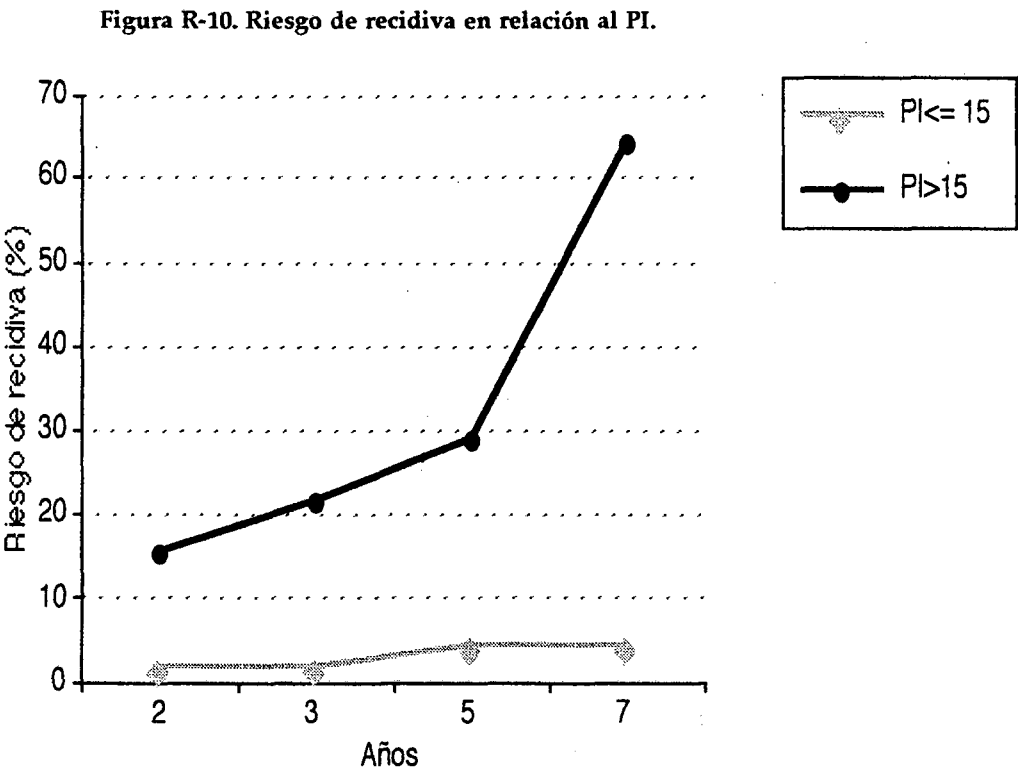
Gr.I = meningiomas benignos.

Gr.II= atípicos y malignos.

5.4.4. Por Índice de proliferación (PI)

Consideramos dos grupos, respecto a un valor de corte de PI=15, que corresponde al valor medio entre las recidivas y las no-recidivas. Los del primer grupo ($PI \leq 15$, $n=59$) tienen un riesgo acumulado de recidiva de $4.3 \pm 0.03\%$ a los 5 años. En los del segundo grupo ($PI > 15$, $n=23$), la probabilidad de recidiva fue de $15.4\% \pm 0.10$ a los dos años, $28,9 \pm 0.13\%$ a los 5 años y del $64.3 \pm 0.24\%$ a los 7 años (figura R-10).

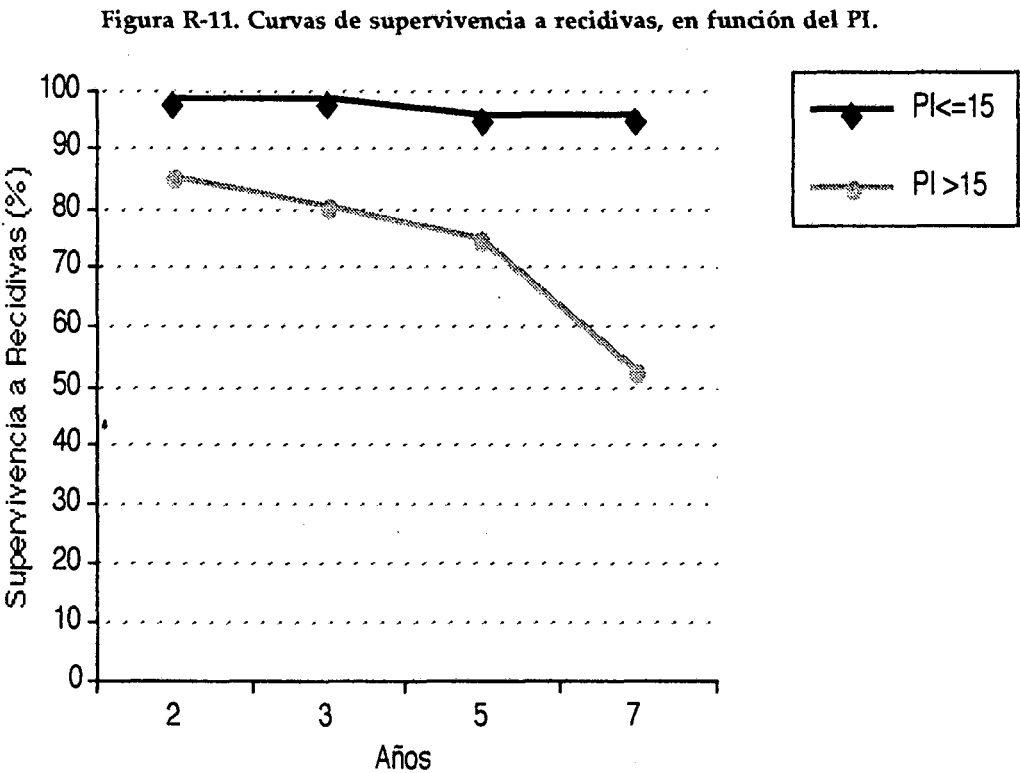
Diferencias altamente significativas ($p=0.0001$, test de Breslow).



PI = Índice de proliferación (%G2M+S).

En la figura R-11 queda reflejado el porcentaje de pacientes que sobrevivirían a la recidiva, en función del índice de proliferación.

El grupo con $PI \leq 15$ ($n=59$) muestran una supervivencia a recidivas muy uniforme, estabilizándose a partir del 7º año en un 95.7%. El grupo de $PI > 15$ ($n=23$), a los dos años sobreviviría sin recidivar el 85.7%; del 5º al 7º año la posibilidad de estar sin recidiva bajaría del 74.9% al 52.3%. En el 7º año existe una diferencia entre los dos grupos de más del 40% ($p=0.0001$).



PI = Índice de proliferación (%G2M+S).

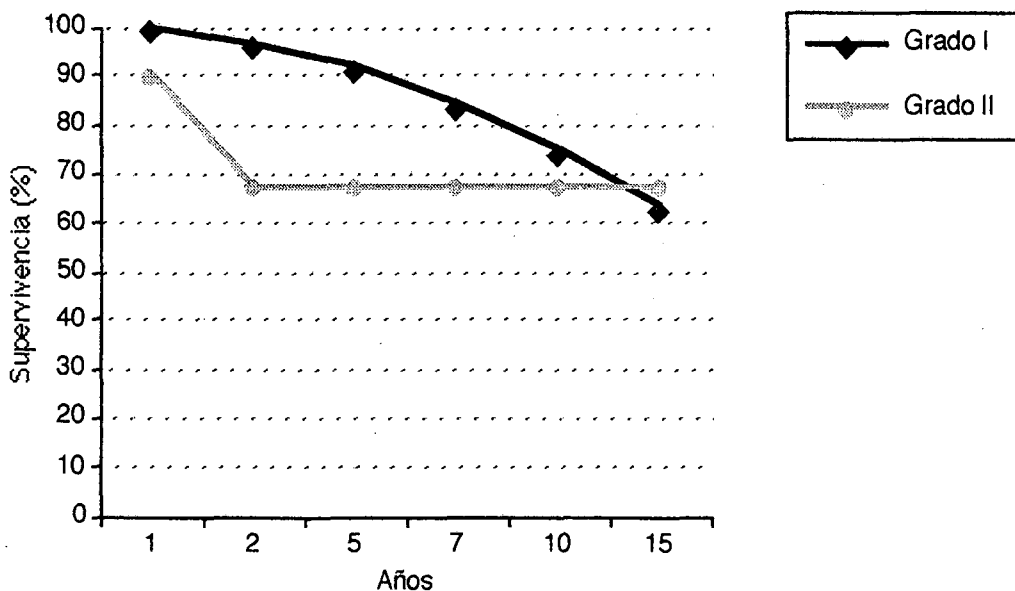
5.5. ANALISIS DE SUPERVIVENCIA

5.5.1. Por grados

A los 3, 5, 10 y 15 años, los meningiomas benignos (grado I) tuvieron una supervivencia del $96.58 \pm 0.01\%$, $91.96 \pm 0.03\%$, $74.72 \pm 0.06\%$ y $63.62 \pm 0.07\%$ respectivamente (figura R-12). Los meningiomas de grado II (Atípicos y Anaplásicos), en los dos primeros años, tenían una supervivencia de tan sólo el 67.5%. A partir del 2º año las curvas de ambos grupos tienden a converger hasta que a los diez años la tasa de supervivencia es prácticamente idéntica en los dos grupos. Es decir, los meningiomas de grado II tienen una tasa de mortalidad alta en los dos primeros años ($39.3 \pm 0.22\%$), a partir de los cuales mantienen la supervivencia.

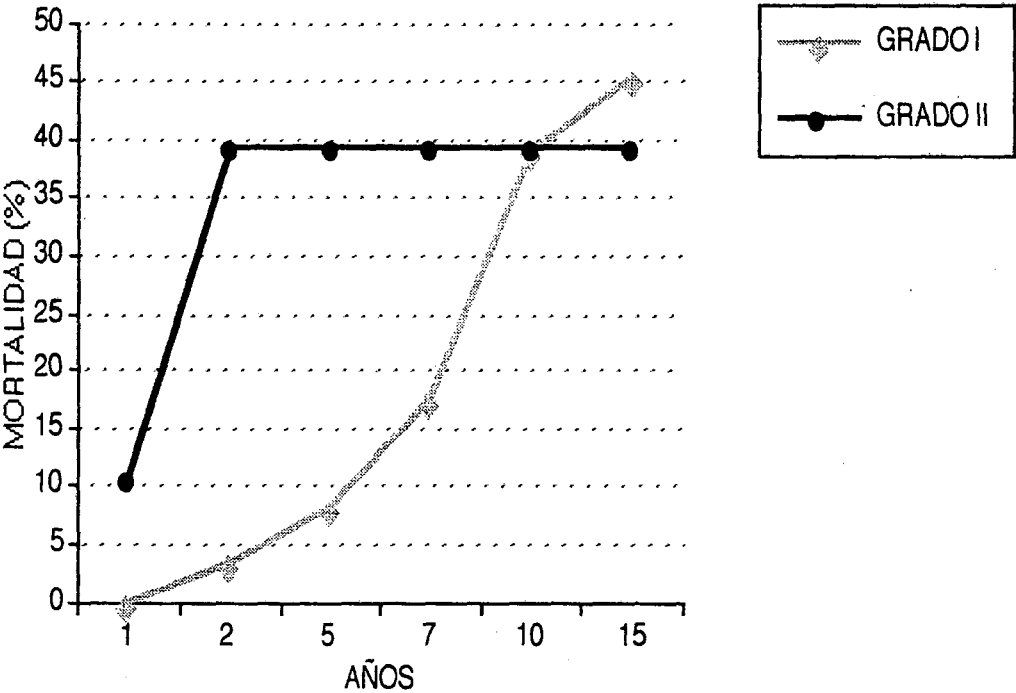
Las diferencias entre ambos grupos fueron significativas ($p=0.01$, test de Breslow)

Figura R-12. Curvas de supervivencia en relación al grado.



Hemos representado las curvas de mortalidad en relación al grado, en la figura R-13. El comportamiento entre los dos grupos es muy distinta en los primeros años. Los de grado II han muerto en el primer año un 10.5%, para alcanzar un 39.3% al 2º año, tras el cual su riesgo de muerte se estabiliza a lo largo de los años. Por contra, los de grado I mantienen un riesgo de muerte bajo hasta los cinco años (8.3%), hasta alcanzar las mismas cifras que los de grado II a los diez años (39.1%) y sobrepasarlos a los quince años (45.2%).

Figura R-13. Mortalidad acumulada en relación al grado de malignidad.



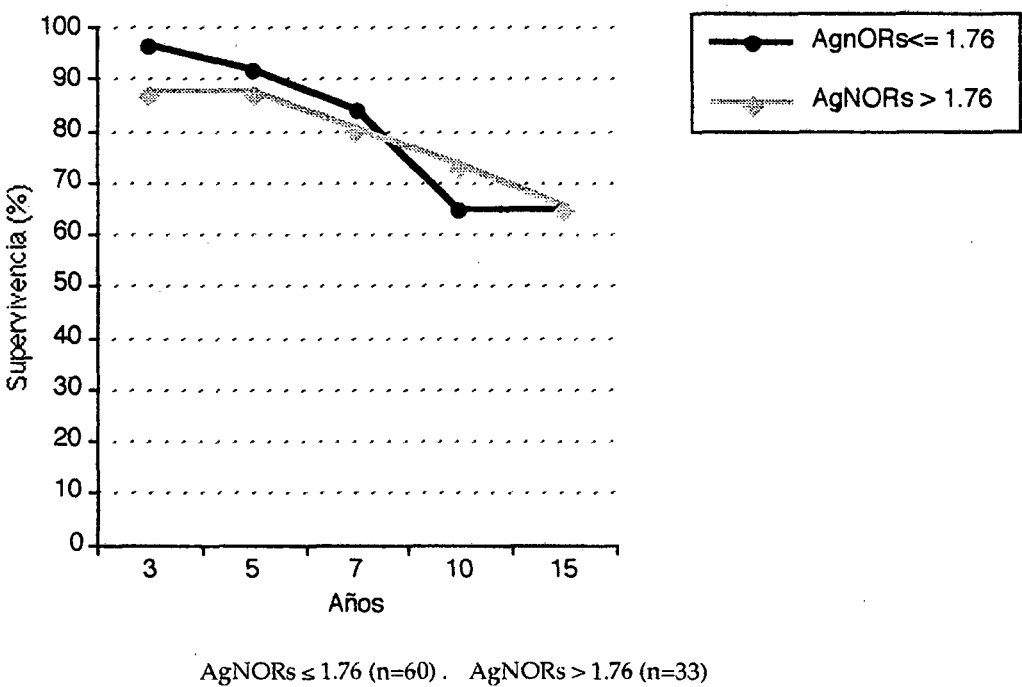
Grado I = Benignos
Grado II = Atípicos y Anaplásicos

5.5.2. Por AgNORs

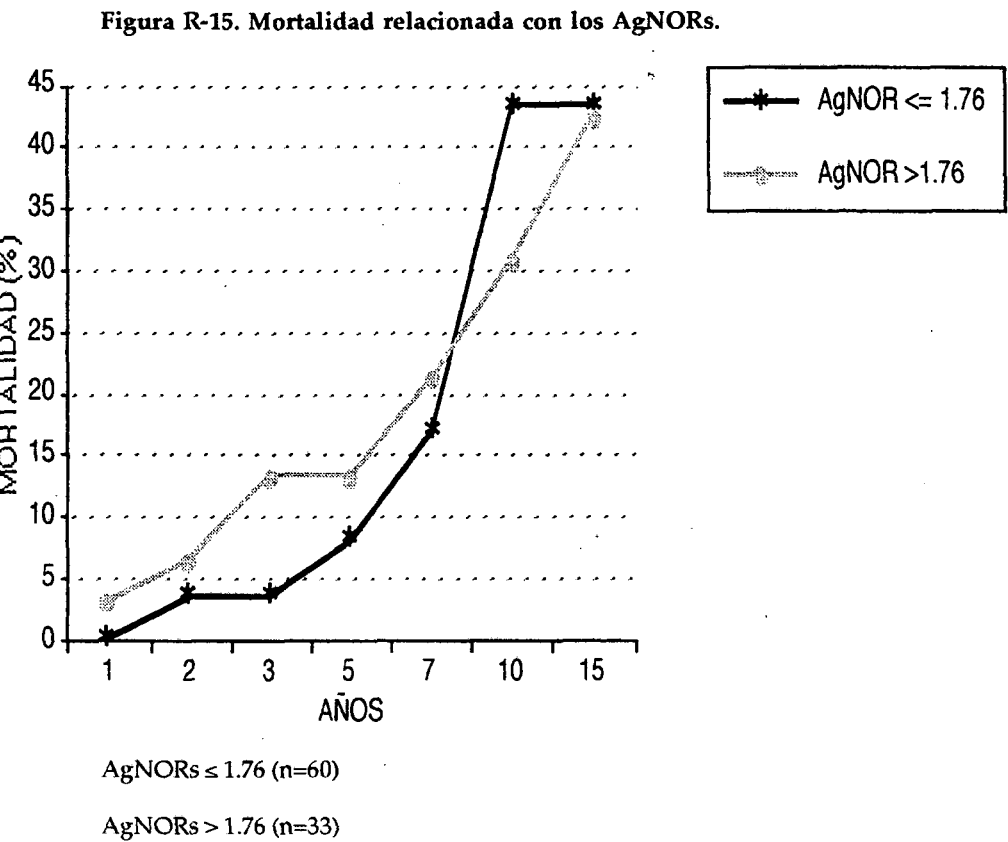
Para los valores de AgNORs, se consideraron dos grupos en relación al valor medio de AgNORs: el grupo de riesgo (n=33) era el que tenía valores > 1.76, y el grupo sin riesgo (n=60) fue el de los meningiomas con valor medio ≤ 1.76 (FiguraR-14). El valor de corte de 1.76 es el valor medio de los AgNORs de los meningiomas recidivados.

Los del primer grupo, sobrevivían a los 5, 10 y 15 años, el $87.6 \pm 0.05\%$, $73.5 \pm 0.10\%$ y $65.3 \pm 0.12\%$ respectivamente, mientras que los del grupo sin riesgo, a los 5 años sobrevivían el $92.3 \pm 0.03\%$ y el $65 \pm 0.09\%$ a los 10 y 15 años. Se observaron pocas diferencias en la tasa de supervivencia entre los dos grupos ($p=0.5$, test de Breslow).

Figura R-14. Relación de los valores AgNORs con la supervivencia.



En la figura R-15 se muestra la mortalidad acumulada en relación a los valores de AgNORs. Ambas curvas difieren poco y sus diferencias no han resultado significativas ($p= 0.5$)



5.6. RESUMEN DE RESULTADOS

En las tablas R. XLVIII y R. XLIX se sintetiza los resultados en relación a distintas variables.

Tabla XLVIII. Resumen de los factores de recidiva.

Factores de recidiva	
SI	Localización parasagital Necrosis Grado Indice de proliferación (PI)
NO	Edad/Sexo Tipos histológicos clásicos Clínica Coagulación dural Aneuploidía AgNORs

Tabla XLIX.. Resumen de los resultados del análisis de distintas variables.

VARIABLES

Localización

1. En la convexidad hubo el mayor porcentaje de meningiomas de grado II y en el raquis la menor.
2. La localización parasagital fue un factor de recidiva en relación al raquis.
3. Los meningiomas raquídeos tuvieron la menor tasa de aneuploidía, el menor valor de AgNORs y menor necrosis, pero los valores de PI fueron muy parecidos a los craneales.

Histología

1. Los meningoteliales y transicionales juntos, fueron los más frecuentes en todas las localizaciones.
2. Los fibroblásticos predominaron en la fosa posterior y los psamomatosos en el raquis.
3. Entre los meningiomas clásicos, la mayoría de recidivas fueron meningoteliales y fibroblásticos.
4. Los tipos histológicos con mayor porcentaje de recidivas no eran los que tenían mayor porcentaje de grado II, ni más necrosis.
5. Los tipos histológicos con más recidivas tenían mayor aneuploidía y mayores AgNORs.

Necrosis

1. La necrosis fue un factor de recidiva, pero 6 de 10 recidivas no tenían necrosis.
2. Los casos con necrosis recidivan antes.

Grado II

1. Los meningiomas de grado II recidivan antes.
2. La mayoría de grado II tenían necrosis.

Ploidía

1. La mayoría de aneuploides eran benignos y sin necrosis.
 2. No hubo relación de los datos de ploidía con los AgNORs.
 3. Tendencia a mayor aneuploidía en las recidivas.
 4. Mayor PI en los aneuploides.
-

En la tabla R.L. se reflejan las distintas características de los casos recidivados y en la tabla R.LI las características generales de todos los meningiomas.

Tabla R.L. Recidivas.

Casos: n°	Edad/ Sexo	Histo- logía (v)	Grado	N e- cr o- sis	Ploi- día (#)	PI (*) (*)	NOR	T.(**) Reci- diva	Esta- do
2	60-F	Trans.	2	si	Dip.	17.3	1.52	20	+ (Ø)
7	65-M	Hema.	3	si	Dip.	15.2	2.3	24	+ (¶)
12	53-F	Meng.	1	no	An.	16.5	1 . 8 3 (1.97)	52	Bien
20	55-F	Fibr.	1	no	An.	16.3 (17.6)	- (1.64)	65	Bien
33	77-F	Meng.	1	-	Dip.	12	-	48	+ (§)
44	54-F	Meng.	1	no	Dip.	20.2 (19.8)	1.62 (1.92)	26	Bien
58	60-F	Meng.	1	no	An.	21.3 (23.1)	1.65 (1.69)	20	Bien (f)
62	65-M	Tran.	2	si	Dip.	11.8 (10.7) (9.5)	1.95 (2.57) (1.58)	16	Bien (¥)
71	55-M	Meng.	1	no	Dip.	15.5 -	1.87 (1.74)	62	Bien
75	45-F	Meng.	1	no	Dip.	17.5	1.4	84	Bien

(v) Meng.=meningotelial. Hemang.= hemangiopericftico. Trans.= transicional. Fibr.= fibroblástico.

(*) El PI se expresa como (G2M+S). (•)En paréntesis, están los valores de las segundas o terceras biopsias de los PI y NOR.

(**) Tiempo desde la primera intervención hasta la recidiva, en meses.

(#) Dip.= diploide. An.= aneuploide.

(Ø) No intervenido.

(¶) Muerte a los 11 años de la 2ª intervención .

(§) No intervenido. Se le aplicó radioterapia (RT). Muerte a los doce meses de la recidiva.

(f) Se aplicó RT después de la 2ª intervención. Lesión residual estabilizada.

(¥) Se aplicó RT después de la 2ª intervención. Recidiva a los seis meses= reintervención.

Tabla. LI. Características de los 100 meningiomas.

Nº	Edad /sexo	Loc.	Clínica	T.Hist.	Grado	Necr.	T. seg.	Estado	Ploidia	DI	PI (G2+S)	PI(S)	AgNOR
1	55 F	convx.	crisis	mening.	1	si	180	V	dipl.		13.8	8.1	2.1
2	68 F	paras.	cris.-par.	transic.	2	si	20	M-R	dipl.		17.30	5.5	1.52
3	56 F	convx.	cef.-a.v.	transic.	1	no	132	V	dipl.		10.70	8.7	1.75
4	40 M	basal	cris.-a.v.	mening.	1	no	168	V	dipl.		20.60	9.8	2.28
5	51 M	convx.	cef.-a.f.s.	transic.	1	no	127	M o	dipl.		16.50	6.0	1.91
6	38 F	convx.	cef.-a.v.	mening.	1	no	156	V	aneu.	1.17	13.91	8.4	1.89
7	65 M	convx.	crisis	hemang.	3	si	80	M-R	dipl.		15.20	8.8	2.30
					3	si							
8	58 M	basal	crisis-cef.	mening.	1	no	156	V	dipl.		9.00	5.7	1.80
9	65 M	basal	a.f.s.	transic.	1	no	82	M o	aneu.	1.23	7.71	4.3	1.80
10	72 M	convx.	cef.-a.f.s.	transic.	1	no	80	M o	dipl.		11.30	6.5	1.66
11	57 M	convx.	crisis	mening.	1	no	120	M o	aneu.	1.85	15.39	12.2	1.87
12	53 F	convx.	cef.-a.v.	mening.	1	no	156	V-R	aneu.	1.26	16.50	4.5	1.83
12				mening.	1								1.97
13	70 F	paras.	crisis	mening.	1	no	108	M o	aneu.	1.50	12.54	4.8	1.50
14	14 F	convx.	crisis	transic.	2	no	152	V	dipl.		12.50	4.3	1.76
15	33 F	convx.	crisis	mening.	1	no	146	V	aneu.	1.86	13.60	10.4	2.04
16	65 F			mening.	1	no	70	M o	dipl.		17.90	7.4	1.50
17	39 M			mening.	1	no	136	V					2.09
18	66 F	convx.	crisis	fibrobl.	1	no	132	V	dipl.		12.00	5.3	1.38
19	69 M	convx.	cris.-par.	mening.	1	no	90	M o					1.56
20	55 F	paras.-M	cris.-par.	fibrobl.	1	no	135	V-R	aneu.	1.79	16.30	14	
				fibrobl.	1	no			aneu.	1.89	17.63	16.4	1.64
21	44 M	paras.	paresia	mening.	1	no	121	V	dipl		15.60	10.3	1.77
22	53 F	convx.	cefalea	transic.	1	no	120	V	dipl		14.00	3.6	1.50
23	42 M	convx.	cefalea	transic.	1	si	113	V	dipl		12.10	8.9	1.69
24	63 F	basal	a.f.s.	transic.	1	no	111	V					1.61
25	55 M	convx.	crisis	mening.	1	no	87	M o	dipl		14.20	2.4	1.73
26	58 F	basal	a.f.s.-a.v.				108	V	dipl		10.40	3.7	
27	31 M	convx.	crisis	mening.	2	si	107	V	dipl		14.40	10.4	1.58
28	72 F	convx.	a.f.s.	transic.	1	no	53	M o	dipl		16.30	6.6	1.71
29	53 F	convx.	crisis	transic.	2	no	100	V	dipl		17.30	10	1.70
30	40 F	convx.	cef.-cris.	mening.	1	no	100	V	dipl		22.10	15.6	1.92
31	36 M	basal	a.v.-a.f.s.	mening.	1	no	108	V	dipl		13.60	6.6	1.69
32	66 M	basal	crisis	transic.	1	no	20	M o	dipl		10.60	7.1	1.70
33	77 F	convx.	cef.-a.f.s.	mening.	1	si	60	M o	dipl		12.00	5.80	
34	73 M	convx.	par.-a.f.s.	transic.	1		92	V	aneu.	1.88	14.47	11.8	
35	56 F	paras.	cef.-par.	fibrobl.	1	no	91	V	aneu.	1.86	14.10	14.1	1.52
36	37 M	paras.	cef.-a.f.s.	transic.	1	no	98	V	dipl		14.10	3.9	1.48
37	71 F	paras.	a.f.s.-par.	mening.	1	no	88	V	dipl		13.90	8.3	1.56
38	68 F	fosa p.	neur.-V	mening.	1	no	88	V					1.53
39	56 F	fosa p.	neur.-V	fibrobl.	1	no	76	V	dipl		12.10	5.9	1.50
40	33 M	basal	crisis	psamo.	1	no	75	V					1.27
41	53 F	paras.	cef.-a.f.s.	mening.	1	no	74	V					1.88
42	68 M	convx.	a.f.s.	angiom.	1	no	70	V	aneu.	1.19	7.30	3.6	1.53
43	65 F	convx.	cef.-a.f.s.	fibrobl.	1	no	20	M o	dipl		12.50	5.8	1.95
44	54 F	paras.	cef.-cris.	mening.	1	no	66	V-R	dipl		20.20	12.5	1.62

Necr.=necrosis
 T.seg.=tiempo de seguimiento
 DI=índice de DNA
 PI=índice de proliferación
 F=femenino
 M=masculino
 cef.=cefalea
 Br.Seq.=Brown Séquard
 a.v.=alteración visual
 a.f.s.=alteración funciones superiores

a.s.=alteración de la sensibilidad
 neur.=neuralgia
 cris.=crisis epilépticas
 convx.=convexidad
 paras.=parasagital
 fosa p.=fosa posterior
 raq.c.=raquis cervical
 raq.d.=raquis dorsal
 M=múltiple

mening.=meningotelial
 transic.=transicional
 hemang.=hemangioperic
 ítico
 fibrobl.=fibroblástico
 psamo.=psamomatoso
 angiom.=angiomatoso
 dipl.=diploide
 aneup.=aneuploide
 V=vive sin recidiva
 V-R=vive con recidiva
 M-R=muerto por recidiva
 M o=muerto por otra causa

Tabla. LI. Características de los 100 meningiomas.

Nº	Edad /sexo	Loc.	Clínica	T.Hist.	Grado	Necr.	T. seg.	Estado	Ploidia	DI	PI (G2+S)	PI(S)	AgNOR
				mening.	1	no			dipl		19.8	12.1	1.92
45	69 M	basal	crisis	transic.	2	si	12	M o	aneu.	1.90	16.47	12.4	1.86
46	60 M	paras.	crisis	mening.	1	no	65	V	dipl		18.50	5.3	1.49
47	57 M	fosa p.	a.v.	fibrobl.	1	no	65	V	dipl		10.90	4.3	2.07
48	63 F	convx.	cefalea	transic.	1	no	65	V	dipl		9.10	3.6	
49	65 F	fosa p.	neur.-V	mening.	1	no	53	V	dipl		11.10	5.1	1.92
50	40 F	convx.	a.f.s.	psamo.	1	no	56	V					1.48
51	43 F	convx.	cef.-cris.	transic.	2	no	56	V					1.66
52	73 M	convx.	crisis	psamo.	1	no	60	V	dipl		12.90	9.8	1.51
53	68 M	convx.	crisis	fibrobl.	1	no	57	V					1.92
54	77 F	convx.	cris.-par.	psamo.	1	no	58	V	dipl		10.90	2.9	1.70
55	68 F	convx.	cris.-par.	transic.	1	no	58	V	aneu.	1.84	12.14	7.4	
56	26 M	convx.	crisis	mening.	2	si	58	V	dipl		19.70	9.2	1.75
57	34 F	convx.	crisis	mening.	1	no	58	V	aneu.	1.39	14.62	4.4	1.81
58	60 F	paras.	a.v.-a.f.s.	mening.	1	no	46	V-R	aneu.	1.27	21.31	15.6	1.65
				mening.	1	no			aneu.	1.47	23.15	16.3	1.69
59	64 M	basal	crisis	mening.	1	no	40	V	dipl		8.80	5.2	1.83
60	72 M	convx.	a.f.s.	mening.	1	no	40	V	dipl		15.00	6.4	1.58
61	47 F	basal	par.-a.f.s.	transic.	1	si	41	V	dipl		8.90	6.6	1.99
62	65 M	convx.	paresia	transic.	2	si	48	V-R	dipl		11.80	6.9	1.95
				transic.	2	si			dipl		10.70	4.1	2.57
				transic.	2	si			dipl		9.50	5.6	1.58
63	41 F	fosa p.	cef.-a.v.	transic.	1	si	32	V	dipl		12.90	7.9	1.82
64	33 F	paras.	cef.-par.	mening.	1	si	36	V	dipl		8.80	5.6	2.21
65	48 F	basal	crisis	transic.	1	no	33	V	aneu.	2.10	38.09	32.9	1.69
66	63 M	convx.	crisis	mening.	1	no	28	V	dipl		8.10	9.2	1.88
67	64 F	convx.	paresia	transic.	1	no	28	V	dipl		12.10	9.3	1.83
68	66 F	basal	a.v.	transic.	1	no	27	V	dipl		13.60	4.0	1.60
69	22 F	convx.	cef.-a.s.	angiom.	1	no	24	V	dipl		7.80	7.5	1.81
70	35 F	convx.-M	NF-II	transic.	1	no	24	V	dipl		12.00	7.0	1.63
71	55 M	raq. c.	paresia	mening.	1	no	180	V-R	dipl		15.50	12.2	1.87
				mening.	1	no							1.74
72	43 F	raq. c.	par.-a.s.	mening.	1	no	180	V					1.71
73	64 F	raq. d.	paresia	mening.	1	no	120	M o	dipl		10.70	7.6	1.50
74	28 M	raq. d.	paresia	mening.	1	no	152	V	dipl		14.00	6.4	2.10
75	45 F	raq. d.	paresia	mening.	1	no	152	V-R	dipl		17.50	9.7	1.40
76	82 M	raq. d.	paresia	mening.	1	no	24	M o	dipl		16.50	8.4	1.85
77	51 F	raq. d.	par.-a.e	transic.	1	no	152	V	dipl		9.90	3.0	1.61
78	35 F	raq. c.	paresia	transic.	1	no	148	V	dipl		9.70	9.3	1.67
79	78 F	raq. d.	paresia	psamo.	1	no	138	V					1.45
80	23 F	raq. c.	paresia	mening.	1	no	136	V	dipl		7.0	4.4	1.86
81	69 F	raq. d.	paresia	mening.	1	no	84	M o					1.65
82	34 M	raq. d.	paresia	mening.	1	no	135	V					1.61
83	39 F	raq. c.	B.S.- a.e.	mening.	1	no	16	V	aneu.	1.93	28.70	27.3	1.56
84	61 F	raq. c.	paresia	psamo.	1	no	140	V					1.49
85	77 F	raq. d.	par.- a.e.	psamo.	1	no	86	M o					1.42
86	64 F	raq. d.	paresia	mening.	1	no	114	V					1.56

Necr.=necrosis
 T.seg.=tiempo de seguimiento
 DI=índice de DNA
 PI=índice de proliferación
 F=femenino
 M=masculino
 cef.=cefalea
 Br.Seq.=Brown Séquard
 a.v.=alteración visual
 a.f.s.=alteración funciones superiores

a.s.=alteración de la sensibilidad
 neur.=neuralgia
 cris.=crisis epilépticas
 convx.=convexidad
 paras.=parasagital
 fosa p.=fosa posterior
 raq.c.=raquis cervical
 raq.d.=raquis dorsal
 M=múltiple

mening.=meningotelial
 transic.=transicional
 hemang.=hemangioperic
 fítico
 fibrobl.=fibroblástico
 psamo.=psamomatoso
 angiom.=angiomatoso
 dipl.=diploide
 aneup.=aneuploide
 V=vive sin recidiva
 V-R=vive con recidiva
 M-R=muerto por recidiva
 M o=muerto por otra causa

Tabla. LL. Características de los 100 meningiomas.

Nº	Edad /sexo	Loc.	Clínica	T.Hist.	Grado	Necr.	T. seg.	Estado	Ploidia	DI	PI (G2+S)	PI(S)	AgNOR
87	48 M	raq. c.	paresia	mening.	1	no	114	V	dipl		13.90	12.5	1.70
88	68 M	raq. d.	paresia	transic.	1	no	60	M o	dipl		14.10	7.5	1.58
89	67 F	raq. c.	Br.-Seq.	mening.	1	no	117	V	dipl		13.30	10.9	1.50
90	61 F	raq. d.	par.- a.e.	mening.	1	no	110	V					1.45
91	62 F	raq. d.	par.- a.s.	mening.	1	si	82	V	dipl		7.80	5.0	1.56
92	56 F	raq. d.	paresia	fibrobl.	2	si	81	V	dipl		10.00	5.5	1.92
93	51 M	raq. d.	paresia	mening.	1	no	80	V	dipl		13.50	7.1	1.58
94	52 F	raq. d.	Br.-Seq.	transic.	1	no	87	V	dipl		10.10	7.4	1.64
95	83 F	raq. d.	paresia	transic.	1	no	70	V	dipl		13.80	7.0	
96	21 F	raq. d.	Br.-Seq.	psamo.	1	no	72	V					1.43
97	73 M	raq. d.	paresia	mening.	1	no	52	V	dipl		7.50	5.40	1.68
98	70 F	raq. d.	paresia	transic.	1	no	44	V	dipl		12.5	7.7	1.70
99	60 F	raq. d.	paresia	mening.	1	no	36	V	dipl		7.9	4.2	1.55
100	54 F	raq. d.	paresia	mening.	1	no	37	V	dipl		21.3	12.3	1.50

Necr.=necrosis
T.seg.=tiempo de seguimiento
DI=índice de DNA
PI=índice de proliferación
F=femenino
M=masculino
cef.=cefalea
Br.Seq.=Brown Séquard
a.v.=alteración visual
a.f.s.=alteración funciones superiores

a.s.=alteración de la sensibilidad
neur.=neuralgia
cris.=crisis epilépticas
convx.=convexidad
paras.=parasagital
fosa p.=fosa posterior
raq.c.=raquis cervical
raq.d.=raquis dorsal
M=múltiple

mening.=meningotelial
transic.=transicional
hemang.=hemangioperic
fítico
fibrobl.=fibroblástico
psamo.=psamomatoso
angiom.=angiomatoso
dipl.=diploide
aneup.=aneuploide
V=vive sin recidiva
V-R=vive con recidiva
M-R=muerto por recidiva
M o=muerto por otra causa

DISCUSSION

6. DISCUSION

"La discusión no es sobre un asunto cualquiera, sino sobre el modo como se debe vivir".

Platón: La República

6.1. PATOLOGÍA Y GRADACION TUMORAL. EL PROBLEMA DE LA MALIGNIDAD EN LOS MENINGIOMAS

El estudio histopatológico de los meningiomas no sirve para definir el potencial grado de malignidad, siendo susceptible de malignización cualquiera de las formas clásicas, y la desdiferenciación puede adoptar distintos grados. Por ello, se hace necesario adoptar unos criterios morfológicos, que permitan etiquetar cada tipo histológico con un grado, según su anaplasia celular. Deben pues gradarse todos los tipos y subtipos histológicos, sin presuponer a priori su comportamiento: por ejemplo, no es seguro que un meningioma hemangiopericítico sea maligno³⁰³ y no es raro que un meningioma meningotelial bien estructurado histológicamente y por tanto aparentemente benigno, cuando se buscan rasgos de anaplasia, resulte ser atípico o francamente anaplásico. Pero la gradación histológica también tiene sus limitaciones,⁷⁴ que dependen de varios factores, como la subjetividad del observador,⁷³ la heterogeneidad del tumor y la incapacidad de las tinciones histológicas clásicas de reflejar importantes parámetros biológicos a los niveles cromosómicos y moleculares.^{46,116}

Para definir el grado histológico de los meningiomas la OMS propuso un esquema basado en diversos parámetros citológicos, a los que se asigna una puntuación, clasificando a los meningiomas en benignos, atípicos y anaplásicos.¹⁸⁴ Jääskeläinen y Rohringer, seguidos más tarde por Vagner y col., propusieron que a cada criterio se le diese una puntuación de 0 a 3,^{162,302,356} pero dicha puntuación era meramente visual. Según estos autores, los meningiomas quedaban, de esta manera, clasificados en 4 grados de malignidad.

Los criterios histológicos y los grados de malignidad se muestran en las tablas D-I y D-II

Tabla D-I. Criterios citológicos de malignidad, según la OMS
(Kleihues 1993)

Criterios morfológicos	
•	Pleomorfismo
•	Aumento de la celularidad
•	Índice mitótico
•	Necrosis
•	Pérdida de la arquitectura
•	Infiltrado del parénquima cerebral

Tabla D-II. Grados de malignidad en los meningiomas según distintas características histológicas (Vagner 1993).

	Grados de malignidad	Puntuación
I	Benigno	0-2
II	Atípico	3-6
III	Anaplásico	7-11
IV	Sarcomatoso	> 12

Chin y Hinton contemplan solo tres grados.⁶⁰ Chen y Liu⁵⁹ consideran la celularidad, el pleomorfismo y las mitosis para definir los meningiomas atípicos y anaplásicos, considerándolos conjuntamente.

Maier, por su parte²¹³ define también los meningiomas clásicos, atípicos y malignos, citando la nueva tipificación tumoral de la OMS.¹⁸⁴

Sin embargo ninguno de estos grupos, como hace notar Mahmood, definió los criterios que debían emplearse para asignar 1, 2 ó 3 puntos.²¹¹ Este autor estableció los criterios objetivos por los que se puntuaba cada uno de los hallazgos histológicos enunciados por la OMS, clasificando los meningiomas en Benignos (grado 1), Atípicos (grado 2) y Anaplásicos (grado 3) según la puntuación obtenida. En nuestro trabajo, para la gradación de los meningiomas, hemos aplicado el método de Mahmood,²¹¹ por considerarlo el más completo y objetivo. Mahmood y col. hacen notar que la presencia de ocasionales células neoplásicas con núcleos grandes, hipercromáticos, con cromatina densa y sin nucleolo, lo cual es un

hallazgo común en los meningiomas típicos, no debe considerarse un indicador de pleomorfismo nuclear.

En nuestro trabajo tenemos 9 casos de meningiomas de grado 2 (Atípicos) y 1 caso de grado 3 (anaplásico), lo que representa un 10% de nuestra serie. Cinco hombres y cinco mujeres. Esta igualdad en cuanto al sexo en los meningiomas malignos es una constante en la literatura. 155,170, 210, 348, 369

No obstante, la gradación tumoral no es un factor pronóstico fiable en cuanto a la recidiva, pues el 70% (7/10) de nuestros casos recidivados eran meningiomas benignos histológicamente. Se ha hecho, pues, necesario complementar el estudio histológico con análisis citocinéticos y citogenéticos, y correlacionar las anomalías del DNA celular con el comportamiento biológicamente agresivo de los tumores.²⁵⁴ Los estudios de citogenética de las células tumorales han demostrado que a mayor número de aberraciones cromosómicas, mayor tasa de recidiva y de meningiomas atípicos.¹⁰ Se cree que los meningiomas del niño tienen peor pronóstico que en los adultos, probablemente relacionado con alteraciones cromosómicas, como hace notar Wullich³⁷⁴ en el estudio de dos meningiomas en un niño con meningiomas múltiples, hallando además de la monosomía 22 un exceso de cromosomas, a diferencia del perfil cromosómico de los meningiomas del adulto.

También se han realizado estudios inmunohistoquímicos para tipificar mejor la posible malignidad de los meningiomas, con resultados controvertidos. El trabajo de Radley no muestra diferencias inmunohistoquímicas entre los tumores benignos y malignos,²⁹⁷ a diferencia del de Rossi³⁰³ en que todos los

meningiomas atípicos y malignos tenían un mayor porcentaje de macrófagos y linfocitos, señalando los autores la utilidad de las técnicas inmunohistoquímicas para tipificar mejor la anaplasia de los meningiomas. Artlich,¹¹ por su parte, no halló valor de la inmunohistoquímica para predecir las recidivas.

6.2. ESTUDIOS DE CINETICA TUMORAL

Han sido empleados gran cantidad de tiempo y esfuerzos con el fin de medir el potencial proliferativo tumoral mediante el estudio de distintas variables, que puedan correlacionarse con la recidiva tumoral y con la supervivencia de los meningiomas. Dado su poco potencial proliferativo, y considerados benignos en un 90%, afinar en los criterios que puedan predecir la posibilidad de un comportamiento agresivo inesperado sería de gran ayuda y tendría posiblemente una mayor repercusión práctica que en los tumores claramente malignos.

Los métodos seguidos han sido muchos, destacando entre ellos el porcentaje de mitosis, el "tumor doubling time", el índice de timidina, el índice de bromodesoxiuridina, el índice de Ki-67, Ag NORs y la citometría de flujo.

El **contenido mitótico** de un tumor puede expresarse por el número de mitosis por 10 campos o por el "índice mitótico", expresado en porcentaje. Es un método sencillo y ha sido ampliamente comprobada su fiabilidad como medida del comportamiento biológico de ciertos tumores;^{47,261,347} sin embargo tiene claras

limitaciones, como por ejemplo la variabilidad morfológica dentro del mismo tumor con posibilidad de analizar preparaciones que no sean las mas activas, o la imposibilidad de distinguir entre núcleos picnóticos y figuras de mitosis. También existen diferencias importantes entre los análisis realizados con distintos microscopios,⁹⁹ así como que el número de mitosis no tiene en cuenta el tamaño celular, por lo que en un campo habrá menos células si se trata de un tumor de células grandes que un tumor de células pequeñas. Por esta razón se prefiere el uso del "índice mitótico", aunque no es un método claramente establecido, por lo que su uso rutinario como parámetro independiente de la proliferación celular debe interpretarse en el contexto de otras variables clínico-patológicas.²⁹⁴

El **Tumor doubling time** puede medirse por distintos métodos y representa el tiempo en que el tumor doble su volúmen o el número de células. Jääskeläinen y col.¹⁶² estiman el potencial proliferativo de los meningiomas mediante mediciones seriadas del volúmen por TAC según la fórmula:

$$T_d = \frac{\log 2}{\log V_1 - \log V_0} \times t$$

donde T_d es el "tumor doubling time", y t es el tiempo entre dos mediciones del volúmen tumoral, V_0 y V_1 . Hallan una buena relación entre el T_d y los grados de anaplasia (mayor velocidad de crecimiento en los grados II y III) y el índice mitótico, pero refieren una considerable variabilidad dentro del mismo grado, pues cuatro meningiomas benignos crecieron rápidamente y tres anaplásicos lo hicieron moderadamente. Al igual que Jellinger y Slowik¹⁷⁰ encontró que la tasa de crecimiento aumentaba en las recidivas sucesivas. Cho⁶¹ estima el T_d mediante el índice de tinción de las

células en fase de proliferación medido con la bromodesoxiuridina (BUdR), según la fórmula : $T_d = 500 \times \text{Exp}(-0.73 \times \text{LI})$ y también encuentra una buena correlación entre los valores de tinción de la BUdR y el T_d : a mayor LI, menor T_d .

El índice de tinción de la timidina (TLI) muestra valores más altos que el recuento de las mitosis, dado que la fase S del ciclo celular es más larga que la fase M, y supuestamente sería un método más fiable. Pero, ya hemos dicho que es una técnica mucho más costosa, que requiere mucho tiempo para los resultados, precisa tejido fresco y además no mide la duración de la fase S, sino solamente el número de células de la misma, por lo que puede suceder que un tumor con poca actividad proliferativa (como el meningioma) tenga altos índices de TLI. En el estudio de algunos procesos hematológicos (mieloma, linfomas no Hodgkinianos) se ha mostrado muy útil para el diagnóstico del grado y el pronóstico,³¹ restringiéndose su uso para esta patología.

Mientras que algunos autores hallan una correlación entre el Ki-67 y los datos obtenidos por otras técnicas.^{175,316,323} Walker comparando los resultados del Ki-67, la citometría de flujo y el grado histológico en los tumores de mama, no fue capaz de hallar ninguna relación significativa entre estos tres parámetros. ³⁶⁴

Los resultados en relación a la supervivencia y la gradación tumoral son muy variables en los trabajos publicados. Las propias limitaciones de la técnica (errores del observador), la necesidad de tejido fresco y la gran variabilidad de los resultados, en parte por la labilidad del antígeno, el cual puede destruirse dependiendo del tiempo de fijación, limitaría el uso generalizado de este método. ²⁴⁴

La **bromodesoxiuridina** (BUdR) tiene ventajas sobre la timidina, pues al ser un agente terapéutico (aumenta la sensibilidad de las células a la radioterapia), pueden realizarse estudios cinéticos *in vivo* sin necesidad de ningún otro proceso, aunque esta propiedad sería poco útil en los meningiomas. El procedimiento es más rápido que con el Ki-67, es más fácil su incorporación a las técnicas diagnósticas de cualquier servicio de patología medianamente dotado y además el estudio *in vitro* se ha mostrado tan fiable como el realizado *in vivo* desde que diversos investigadores lo hicieran factible.^{90, 244,259,260, 315}

Desde que a mediados de la década pasada, Ploton²⁹¹ sistematizara el uso de los NORs como indicadores de proliferación tumoral, se han venido usando en distintos tumores, con resultado desigual, según autores. Se han hallado diferencias significativas en el valor medio de los AgNORs en el carcinoma de mama,³³⁵ en las lesiones melanóticas,^{102,201} en los linfomas,⁷⁶ en los gliomas,^{94,130,215} en lesiones pleurales, y carcinomas de vejiga²²⁸ en relación al grado tumoral. Por contra, Egan⁹⁷ demuestra unos AgNORs más altos en el relativamente benigno epiteloma basocelular que en lesiones más malignas, apuntando que los AgNORs quizás reflejen la elevada actividad mitótica de las células basales normales de la piel. Crocker, comparando los AgNORs con los datos de ploidia en los linfomas no-Hodgkin medidos mediante citometría de flujo, halló relación entre el valor medio de los AgNORs y el porcentaje de células en fase S, pero no con el porcentaje de casos aneuploides,⁷⁷ concluyendo que el número de AgNORs refleja la actividad celular pero no se relaciona con la ploidía.¹⁶⁸ Lo mismo se hizo en los

tumores de mama¹¹⁴ hallando que a mayor número de AgNORs, mayor aneuploidía y mayor PI.

Otros autores han hallado correlación entre el número de AgNORs y el índice proliferativo medido mediante el Ki-67 en los tumores linfomatosos ^{113,129} y en los meningiomas,^{212,273,289} a diferencia de otros.¹⁹⁴

Griffiths, al contrario, no halla ninguna correlación entre los AgNORs y la supervivencia, ni entre los AgNORs y la ploidia ó el índice de proliferación (PI) en los adenocarcinomas de recto.¹²⁴ Nuestros resultados en los meningiomas son superponibles en parte a los de Griffiths, no hallando correlación entre los valores de ploidía y los AgNORs; al contrario, en nuestros casos, a mayor número de AgNORs correspondió menor número de casos aneuploides y menor valor de PI. Tampoco se correlacionaron con la recidiva,³⁴ a diferencia de otros.⁶⁰ En cambio, sí ha resultado significativa la relación de los AgNORs con la existencia de necrosis y las diferencias de los valores de AgNORs entre los meningiomas craneales y raquídeos. También hemos hallado diferencias significativas entre los AgNORs de los grados 1 y 2-3 lo cual concuerda con otros autores, ^{34,60,77,114,187,213,228,273,307,384} aunque otros estudios obtengan resultados opuestos.^{212,271} Al igual que otros autores^{212, 273} y a diferencia de Kunishio¹⁹⁴ no hemos hallado diferencias significativas en los AgNORs de los tumores originales en comparación con las recidivas, aunque el valor medio de éstas fue mayor. En cuanto a la histología y los AgNORs, un dato interesante de nuestro análisis ha sido hallar unos valores de AgNORs significativamente más altos en los tipos histológicos que tuvieron mayor tasa de recidiva y entre el hemangiopericítico y los

meningiomas clásicos, y dentro de éstos el valor de AgNORs de los psamomatosos fue significativamente inferior al resto, lo que se relaciona con la tendencia a tener mayor número de AgNORs los casos que recidivan.

Hemos visto que los AgNORs se correlacionan con el grado de malignidad en muchas neoplasias, pero no forzosamente con el comportamiento clínico.²⁵⁸ Nicoll en un estudio retrospectivo de 54 glioblastomas multiformes encuentra correlación del número de AgNORs con el índice mitótico pero no con la supervivencia, al igual que nosotros con los meningiomas.

La medida de los AgNORs presenta dificultades de interpretación; no se sabe exactamente lo que se mide, pues existen discrepancias cuando se comparan el número de AgNORs de células anormales con el que se supone ha de tener una célula diploide normal.²⁹⁴

Estas diferencias pueden ser debidas a que los AgNORs varían según la fase del ciclo celular: así, en la interfase, los cromosomas se fusionan y dan lugar a una sola estructura teñida por la plata, mientras que en la metafase, los cromosomas se dispersan visualizándose varios AgNORs. En realidad, se sugiere que el número de AgNORs no es un verdadero número sino una medida de la dispersión de las proteínas asociadas a estos NOR.³⁵⁵ Esto, no obstante, no invalida el valor de los NORs, ya que la dispersión persistente de los AgNORs es un factor reconocido de las células malignas.³⁵⁵ El problema surge a la hora de contarlos, ya sea por error del propio observador ó por la técnica empleada. Dos cuestiones surgen a la hora de evaluar los AgNORs: (1) ¿deben contarse los NORs de todos los planos focales ó no?, (2) ¿deben

incluirse en el conteo todos los agregados intranucleolares ó solo los agregados grandes que semejan nucleolos?. En cuanto a la primera cuestión, el conteo de un solo plano es totalmente aceptable de acuerdo con las leyes estereológicas.²⁶³

El segundo punto es bastante más controvertido. Así, Chin⁶⁰ cuenta todos los núcleos, tengan o no NORs obteniendo unos resultados mayores que los nuestros y de otros,²⁷³ Aunque pueden discriminarse los NORs intra y extra nucleolares,⁷⁸ Chin y Hinton los cuentan juntos ya que según ellos no ayudan a la diferenciación histológica, en controversia con otros autores^{34,290} que, en los meningiomas benignos hallan más NORs dentro del nucleolo mientras que en los malignos estarían distribuidos por todo el núcleo. Con las tinciones de plata se obtienen unos agregados intranucleolares pequeños y otros agregados grandes que parecen nucleolos y que así mismo pueden ser uniformes ó contener mas agregados en su interior.¹²⁴ Howat llama a estos agregados grandes AgNus (*silver stained nucleoli*), que no tendrían significado pronóstico y por tanto el intentar contarlos, aparte de ser tedioso, añadiría mayor variación,¹⁵³ obteniéndose unos coeficientes de variación inaceptables. El distinto grosor de los cortes de las preparaciones ($3\ \mu$ ó $5\ \mu$) o el tiempo de incubación pueden dar lugar a distinto número de NORs y a mayor background,^{153,290} variando los resultados de un observador a otro. Con el analizador de imágenes se mejora el recuento ya que al hacerse de manera automática se obvia el factor de interpretación personal, es más rápido, menos cansado y más seguro.³⁰⁷

Con la **citometría de flujo** también se puede medir el índice proliferativo de un tumor dado, expresándose en porcentajes (%) de la suma de las fases (G2M+S) del ciclo celular. Puede aplicarse tanto en material fresco como material de archivo, lo que permite estudios retrospectivos como el nuestro.⁷¹ Los estudios prospectivos de material fresco tardarían años hasta conseguir suficiente material para que los resultados pudieran analizarse con fiabilidad. Con el material de archivo se elimina esta dificultad, permitiendo analizar gran número de casos con curso clínico conocido.⁷² Otra ventaja del material de archivo es la posibilidad de escoger muestras seleccionadas, mediante el estudio previo de las laminillas, que sean más relevantes histológicamente.²⁷⁷ Se ha demostrado una gran correlación entre los resultados obtenidos con material prefijado y fresco, demostrándose que puede emplearse, con seguridad, material de archivo para estudios con citometría de flujo.

110, 136, 361

En los últimos años son numerosos los trabajos publicados que intentan correlacionar distintas variables clínicas, histológicas y el comportamiento tumoral, con la aneuploidía. Está bien reconocido, que en muchos tumores sólidos, el grado de aneuploidia del tumor se relaciona con el grado de malignidad y con el comportamiento clínico.^{12,13,106,195,344,383} Así, el 90% de los tumores de mama serían aneuploides; la aneuploidía se relacionaría con las recidivas tempranas^{135,217} o con una menor tasa de supervivencia^{13,75} pero no serviría para diferenciar los tumores benignos de los malignos.²⁹⁴ La positividad de los receptores estrogénicos es más frecuente en los tumores diploides,^{25,75,270,295} los cuales serían menos indiferenciados.²⁷⁰ En el cáncer de ovario, la ploidía fue el factor pronóstico más importante;^{107,109} a mayor desdiferenciación y

cuanto más avanzado estuviera el cáncer, mayor aneuploidía; es decir, los tumores en fases iniciales tienen tendencia a ser diploides y los más avanzados, aneuploides,^{106,159} lo cual reafirmaría clínicamente la teoría de la evolutividad clonal de los tumores de Nowell.²⁶² En el estudio de Armitage sobre 134 carcinomas colorectales, la ploidía y el estadio tumoral fueron los únicos factores pronósticos.⁹ También en otros tumores sólidos, como los linfomas no-Hodgkin y el cáncer de vejiga, numerosos trabajos han correlacionado la menor supervivencia y el mayor grado histológico con la aneuploidía.^{37,38,98,123,127,172,209,248} El peor pronóstico del cáncer de cuello de útero fue el único que no se relacionó con la aneuploidía en un estudio de 1465 tumores malignos.¹² Por contra, hay trabajos²⁴⁵ que no encuentran correlación de la aneuploidía con un comportamiento maligno clínico-biológico en los tumores cerebrales, e incluso en los meduloblastomas³⁷⁶ y neuroblastomas ¹¹¹ la aneuploidía se asoció a un mejor pronóstico. También se cita una mayor supervivencia en los astrocitomas aneuploides. ^{119,313}

En la literatura se cita que los meningiomas anaplásicos y sarcomatosos (grados 3 y 4) tienden a ser más aneuploides que los meningiomas benignos.⁴ La gradación de Ahyai contempla cuatro categorías de ploidía (distintos histogramas), según los valores de los índices de proliferación (PI) y que se corresponden con los meningiomas benignos (1), atípicos (2), anaplásicos (3) y sarcomatosos (4), según la gradación de la OMS.³⁸⁷ En nuestro trabajo no se puede extraer un paralelismo ya que de grados 3 y 4 solo tenemos un caso. De toda manera, de los 10 tumores atípicos y anaplásicos de nuestra serie (grados 2 y 3), solo 1 caso (nº 45) ha sido aneuploide, por lo que no hemos hallado correlación entre la

aneuploidía y los grados de malignidad. Tampoco en los valores del Índice de proliferación de los grados I y II hemos hallado diferencias significativas, a diferencia de Spaar.³³⁸ En nuestro trabajo un claro ejemplo de que la aneuploidía no se ha correlacionado con el grado es que el porcentaje de aneuploidía ha sido mayor en los meningiomas benignos (20.5%) que en los atípicos y malignos (11.1%), lo que representa una incongruencia, y está en desacuerdo con los datos de otros autores.^{4,314} Hasta cierto punto quizás podría explicarse por la hipótesis de la *evolución clonal* de los tumores de Nowell;³⁶² este autor defiende que a medida que un tumor progresa, se va haciendo aneuploide por distintas mutaciones genéticas: en fases iniciales, los tumores serían diploides o casi diploides, mientras que los tumores con más tiempo de crecimiento serían mayoritariamente aneuploides. Los meningiomas, en un 90% benignos, se sabe que poseen un lento crecimiento, posibilitando que los histogramas en el momento del análisis sean aneuploides por el tiempo transcurrido pero es posible que dicha aneuploidía no corra paralela con un comportamiento agresivo; y que ocurra al revés cuando se trate de meningiomas atípicos y malignos, cuya tasa de crecimiento es mucho más rápida, provocando sintomatología más temprana, y en el histograma se refleje un período inicial de su evolución clónica y por lo tanto, sea mayoritariamente diploide. Es posible también que la diploidía predominante en los meningiomas sea debida a que tengan pocas subpoblaciones genéticamente inestables, posibilitando que el tumor permanezca durante años en fases iniciales de su evolución clónica.

Cuando comparamos los meningiomas craneales y raquídeos, observamos que en el raquis es menor la aneuploidía y también la incidencia de meningiomas atípicos y malignos (el único tumor aneuploide era benigno), lo cual va de acuerdo con la menor tasa de recidiva.

También se cita en la literatura que los valores de los índices de proliferación (PI) han resultado mayores en los tumores aneuploides,^{81,106} al igual que en nuestros casos, y en los meningiomas múltiples³¹⁴ expresando que a mayor alteración del contenido de DNA, mayor potencial de crecimiento posee el tumor. Nosotros solo tenemos dos casos de meningiomas múltiples, y sus valores de PI fueron totalmente distintos.

En nuestro trabajo, ni la aneuploidia ni el PI se han relacionado con los diversos tipos histológicos,^{8,106} ni con la edad o el sexo¹⁵⁷ ni con la existencia de necrosis: de 14 casos con necrosis, 13 eran diploides. De nuestros dos meningiomas angiomasos, uno era diploide y el otro aneuploide, pero ambos tenían valores de PI bajos, al igual que en los casos de Ahyai.⁴

Aún cuando no hay un histograma patognomónico para definir las recidivas,⁴ nuestro trabajo muestra una mayor tendencia a la aneuploidía en los casos recidivados, así como mayores índices de proliferación (PI) en los mismos, de acuerdo con unos autores,^{81, 157} pero en desacuerdo con otros⁸ aunque el poco número de casos limita la significancia estadística ($p=0.06$); otros trabajos obtienen resultados similares usando otros marcadores del índice de proliferación.³³¹ Sin embargo, el índice de DNA (DI) era menor en las recidivas. Nuestros resultados pueden compararse con los de

May y col.²³³ cuya metodología es igual a la nuestra, aunque sus resultados son mucho más significativos; estos autores correlacionan los datos entre 40 meningiomas no recidivados y 20 recidivas.

En nuestro trabajo el índice de proliferación (PI) ha resultado significativo ($p < 0.001$) para determinar el riesgo de recidiva, y sus valores han sido claramente superiores en los meningiomas que recidivaron, superponibles a los de otros autores que usan el Índice de tinción de la bromodesoxiuridina.^{198,331} Appleby⁸ también refiere que el PI elevado se relacionaba con mayor rapidez de recidiva.

En nuestros casos recidivados no hemos hallado cambios significativos en los valores de ploidía, AgNORs y diferenciación tumoral respecto al tumor original, al igual que otros autores.^{4,314} En dos casos que recidivaron dos veces (nº 58 y 62) se les administró radioterapia tras la 2ª intervención (el caso 58 no fue intervenido de la 2ª recidiva) lo que podría haber influido en la proliferación tumoral.

En la literatura hay pocos trabajos que correlacionen los NOR y la CMF,^{77,114,191,288} con resultados controvertidos en cuanto a pronóstico de malignidad. Al igual que Plate y el trabajo de Griffiths ya citado,^{124,288} no hemos hallado correlación entre los valores de NOR y los hallazgos de ploidia.

La DNA-citometría de flujo, como los demás sistemas de medición de la proliferación tumoral, tiene limitaciones que empiezan con la controversia de la definición de aneuploidía. Ésta va ligada a la interpretación del cariotipo, pero la interpretación de los

histogramas no puede extrapolarse directamente con el cariotipo.⁷² Los estudios citogenéticos han demostrado que en un 59% de los meningiomas hay anomalías en el cariotipo,³⁷⁹ mayor que nuestra tasa de aneuploidía y la de otros autores.^{81,157,216} Esta diferencia puede explicarse por la poca resolución de la citometría de flujo para detectar cambios en la ploidía debidas a la pérdida de un solo cromosoma o parte de él, pero la citometría de flujo permite el estudio de mayor número de células que el cariotipo, por lo que sus resultados pueden ser más válidos en cuanto al estudio de la ploidía de los tumores.¹⁵⁷ Algunos autores consideran que un histograma es aneuploide si contiene un porcentaje (arbitrario) de células fuera del pico diploide, ó cuando el pico diploide tiene una base amplia ó está algo desplazado; esta premisa es injustificable, ya que no se distinguiría entre una subpoblación claramente aneuploide de otra diploide que se dividiera rápidamente. Appley,⁸ de acuerdo con otros trabajos^{74,108,139} recomienda que la aneuploidía debe considerarse cuando hay un pico claramente separado del pico diploide normal. En los histogramas debe reflejarse el coeficiente de variación de los picos, que da idea de la resolución de la muestra.⁷² Dicho coeficiente variará dependiendo del tipo tisular y de la manera de prepararlo.

Aún cuando los meningiomas sean de los tumores considerados mas uniformes histológicamente, en nuestra serie tuvimos varios casos con histogramas distintos dentro del mismo tumor, hecho bien relacionado en la literatura.^{105,144,245} Por ejemplo, una laminilla mostraba un histograma aneuploide, mientras otra, con una fracción tumoral distinta, era diploide; en estos casos, a igualdad o con similares valores de coeficientes de variación, escogimos como muestra más representativa la que exhibía mayor

aneuploidía por considerarla la más significativa dentro de las subpoblaciones celulares con un crecimiento distinto dentro del mismo tumor. ³³ Otro de los factores que pueden modificar la lectura del histograma es la cantidad de "debris" de la muestra, que vendría condicionado por células no tumorales, inflamatorias, células vasculares, núcleos partidos, etc. Con el programa usado ("multicycle") se elimina el debris, aplicándose un descuento según una ecuación exponencial ($y=e^x$), y ajustándose los valores de las fases G2 y S, de manera automática.

En conclusión, creemos que la técnica de la citometría de flujo todavía tiene importantes limitaciones, que deben llevarnos a tomar sus resultados con cautela. Es una técnica que no sustituye al estudio clásico morfológico de los tumores, sino que lo complementa, y que es preciso que los criterios de laboratorio y de control de calidad sean sistematizados y utilizados por la mayoría, siendo ésta la única forma en que puedan compararse resultados de distintas series.

6.3. MENINGIOMAS Y RECIDIVA

La ausencia de hallazgos histo-citológicos de malignidad no es garantía de buen pronóstico en los meningiomas, ni la existencia de los mismos es indicativo de recidiva segura. En nuestro caso, los meningiomas meningoteliales y fibroblásticos fueron los que más recidivaron, de acuerdo con lo observado por otros autores ⁸⁰ y sin embargo, comparados con los otros tipos histológicos, eran los que tenían mayor número de casos benignos.

Las tasas de recidivas son muy variables en la literatura: 6.5%,⁶³ 17.2%,² 19.3%,²⁴¹ 26%,²³⁶ a los cinco años. Esta gran variabilidad está relacionada con las características de los estudios en cuanto a tiempo de seguimiento, inclusión de las formas malignas, etc.

Existen casos de recidivas tardías y la estimación de las mismas es difícil porque el crecimiento de los meningiomas es lento y sólo son posibles estudios retrospectivos¹⁶². Melamed y col.²³⁶ hallaron un 29% de recidivas entre el 7º y 17º año post-cirugía en una serie de 126 meningiomas benignos. En 1985, Mirimanoff y col.²⁴⁵ estudiaron una serie de 145 meningiomas benignos extirpados totalmente, y mediante tablas de supervivencia hallaron una tasa de recidiva del 32% a los 15 años. Si, como hace notar Jääskeläinen¹⁶⁶, uno de cada tres meningiomas benignos recidiva si se le da suficiente tiempo no parece prudente tratar a los meningiomas con guante blanco como hasta hace poco.

Nuestras tablas de supervivencia, mostraron una probabilidad de recidiva global a los 3, 5 y 7 años del 5.31%, 8.18% y 13.71% respectivamente, bastante distinta del 10% global. Los datos todavía

son más significativos, si analizamos separadamente los meningiomas craneales y raquídeos, con recidivas del 11.4% y del 6.7% respectivamente. La incidencia estimada de recidiva a los 5.5 años sería del 20.7% en los craneales y tan solo del 4.4% en los raquídeos. En nuestros casos, la recidiva más tardía fue a los 84 meses, pero a los 10 años solo se habían seguido el 23% de los casos, por lo que es posible que el porcentaje de recidivas aumente con el tiempo.

De lo dicho se desprende que un factor primordial para estimar la tasa de recidiva es la fiabilidad y el tiempo de seguimiento.

Otro factor importante en la evolución clínica de los meningiomas, es su localización y, por tanto, su resecabilidad.¹⁸⁰ Se acepta que los meningiomas accesibles, como los de la convexidad, tienen una menor tasa de recidiva. En nuestro caso ésta fue del 10.8%, significativamente menor que la de los meningiomas parasagitales (30.8%). Chan, en su trabajo de 1984 ⁵⁸ halla, en los meningiomas parasagitales, un 40% de infiltración de los senos duros, correlacionando este dato con una mayor tasa de recidiva, lo que concuerda con nuestra serie y con la de Christensen⁶³ y Yamashita.³⁷⁵ Por contra, no tuvimos ninguna recidiva en los de situación basal o en los de fosa posterior, localizaciones a priori conflictivas, por lo que, aparte de la localización, deben considerarse otros factores que influyan en la recidiva. ^{2,254}

La simple coagulación de la implantación dural,^{58,166} es decir el tipo II de los grados de extirpación de Simpson, se ha invocado como causa de recidiva, ^{58,332,375} pero no lo hemos observado en nuestra serie. En nuestro trabajo se realizó la coagulación de la

implantación dural del tumor en todos los meningiomas basales, de fosa posterior y de raquíis (n= 48) sin que haya sido un factor de recidiva, pues de 82 casos solo recidivaron 2. No podemos comparar nuestros resultados con el trabajo de Jääskeläinen¹⁶⁶ en el que sólo se incluyen los meningiomas benignos; puede pensarse razonablemente que si un tumor invade o se adhiere fuertemente a la duramadre (lo que obligaría a la extirpación dural) es debido a que posee cierto grado de anaplasia que influirá en la probabilidad de recidiva, por lo que deben contemplarse otros factores en la recidiva, además del grado de extirpación dural. Por ejemplo, los meningiomas raquídeos de la región cervical, preferentemente son de situación anterior,^{203,337} lo que imposibilita, en la mayoría de los casos, la extirpación de la duramadre donde se implantan, y sin embargo ésto no ha sido un factor de recidiva en nuestra serie ni en la de otros.^{203,337} Solero aporta un 5.6% de recidiva en los casos en que coaguló la duramadre y un 8% en los que practicó extirpación de la misma y Levy no tuvo ninguna recidiva en el grupo con simple coagulación dural.

Al igual que en otras series,^{32,63,80,164} la existencia de necrosis ha sido un claro factor de agresividad biológica en nuestro trabajo, correlacionándose con los grados de malignidad y con la recidiva: el 28.6 % de los casos con necrosis recidivaron, por 7.1 % de los casos sin necrosis, datos superponibles a los de Böker y col³² con el 26 % versus 6.1 %. Un trabajo reciente²¹⁸ demuestra una relación estadísticamente significativa entre la micronecrosis y el riesgo de recidiva. En este trabajo, la relación de micronecrosis de los tumores benignos, atípicos y anaplásicos era del 8%, 42% y 71 % respectivamente, similar a nuestros resultados (7.9 %, 66.7 % y 100 %).

Otros factores son citados en la literatura como factores de riesgo de recidiva: hipercelularidad;³³³ hipercelularidad y mitosis;¹⁷⁰ la consistencia friable del tumor y la invasión ósea;¹⁶⁶ la infiltración cerebral ^{32,80} o la existencia de signos radiológicos sugestivos de anaplasia que pueden observarse en el TAC como, por ejemplo, la infiltración dural representada como una captación inhomogénea, el aspecto abollonado ("mushrooming") del tumor²⁵⁵ o la forma digitiforme.⁶ La mayoría de estos parámetros se usan para la gradación tumoral, que en nuestro caso también ha resultado significativa como factor de recidiva, obteniendo para los meningiomas de grado II un riesgo de recidiva 7 puntos por encima de los benignos. También el tiempo previsible de recidiva para los de grado II ha sido mucho menor (20 meses) que en los benignos (52.7 meses), lo que concuerda con los datos de otros autores, ^{164, 211} pero al igual que otros¹⁷⁰ no hemos hallado desdiferenciación en las recidivas como se cita en la literatura.^{128,164,211,252,369,377} El análisis de supervivencia mostró diferencias significativas entre los grados I y II.

Baird en su revisión de 424 meningiomas halló como factor de recidiva el tipo angioblástico y, a diferencia de nuestra experiencia, el fibroblástico recidivó poco. Nosotros no hemos hallado diferencias significativas entre los tipos histológicos clásicos y la recidiva, al igual que Jellinger¹⁷⁰ y de los dos meningiomas angiomatosos ninguno ha recidivado.

Aunque se cita que los meningiomas en los pacientes menores de 40 años recidivan más, en menos tiempo y tienen mayor posibilidad de recidivas múltiples,²⁸⁶ nuestros resultados no han mostrado correlación entre la edad y el sexo con la recidiva, siendo

ésta la norma en la mayoría de trabajos.²⁵⁴ Este dato estaría en franca controversia con el peor pronóstico en los mayores de 40 años cuyos índices de proliferación serían mayores según Salmon.³¹⁴

Tampoco el estado clínico del paciente en el momento de la intervención resultó ser un factor de recidiva en nuestro caso, aunque es interesante hacer notar que los que más recidivaron de los de cráneo fueron los que tenían déficit añadido ²⁴¹ y en cambio los de raquis, todos con déficit, recidivaron muy poco. Posiblemente el déficit provocado por los meningiomas en el raquis no sea debido al tamaño o capacidad proliferativa tumoral, sino a la menor resistencia y elasticidad de las estructuras nerviosas involucradas.

6.4. LOCALIZACION: MENINGIOMAS ESPINALES VERSUS CRANEALES

Los meningiomas raquídeos se distribuyen a lo largo de toda la columna vertebral, originándose en los *villi aracnoideos* de las salidas de las raíces espinales.⁶²

Su curso es indolente, y se observa que, incluso en los tumores con comportamiento más agresivo, como los meningiomas de situación extradural, las recidivas son raras.^{203,337} Levy halló que de 7 casos extirpados subtotalmente, 2 casos eran extradurales y 1 angioblástico; ninguno de los tres recidivó. Otros dos casos, con extirpación subtotal, recidivaron a los trece y a los dieciseis años. Otros ejemplos en la literatura refieren también recidivas muy tardías en los meningiomas espinales.^{83,103,342} Está claro, que la tasa de recidiva de los meningiomas espinales es mucho menor que la de los craneales. Solero³³⁷ la cifra en un 6%, muy parecida a la nuestra (6.7% vs 11.8%). En las pocas series en que se ha investigado,²⁴¹ el riesgo de recidiva de los meningiomas espinales es bajo: nulo a los cinco años y del 13% a los 10 años.²⁴¹ Nuestros casos tienen un riesgo nulo a los tres años, 4.5% a los 5 años y 10.5% a los 10 años (el doble en los craneales). Ello podría ser debido a que al recidivar más tarde, queden fuera de seguimiento, o que realmente poseen un comportamiento biológico distinto como parece reflejarse en que los meningiomas extradurales, la mayoría con extirpación subtotal, no recidivan tanto como cabría esperar, o que el tratamiento del punto de implantación dural (grados I y II de Simpson) en los meningiomas espinales no influye en la proporción de recidivas.^{203,286,337} Se ha invocado para explicar esta baja tasa de recidivas la elevada proporción de formas

psamomatosas ^{203,286} cuya evolución es muy lenta por su natural tendencia a calcificarse, sin embargo la proporción de éstos solo representaba en nuestro caso el 13.3%.

El predominio de los meningiomas en la mujer se acentúa todavía más en los meningiomas raquídeos: 3/1253 en nuestra propia serie 4/1,83,203 5/1,337 7/1,310 9/1.53 Si esto puede o no estar relacionado con una modulación hormonal distinta en los meningiomas craneales y en los raquídeos es meramente hipotético, pues ya hemos visto que los estudios actuales sobre el rol hormonal en la progresión de los meningiomas, en general, son controvertidos. De todas maneras, Concolino⁶⁹⁻⁷⁰ en su estudio de los receptores esteroideos en tumores espinales halló que éstos eran más frecuentes en los hombres que en las mujeres, a diferencia de lo que sucede en el cráneo. Muchos son los trabajos aportados sobre meningiomas intracraneales que se han desarrollado durante el embarazo ^{26,93} pero solo hay aportados dos casos de meningiomas espinales,²³⁴ citados por Harkey y Crocker.¹³¹

Mediante el estudio de 61 embriones, O'Rahilly²⁷² demostró un origen embrionario distinto para las meninges craneales y espinales. Las craneales derivarían de la placa precordial, del mesodermo no-segmentado paraxial (paracordal) y del mesectodermo (cresta neural), mientras que las meninges espinales lo harían del mesodermo paraxial segmentado (somítico), del mesectodermo (cresta neural) y de las células neurilemales (cresta neural). Si estas distintas fuentes pueden ser en parte responsables del distinto comportamiento clínico de los meningiomas es desconocido actualmente.

Cuando, en nuestra serie hemos aplicado las tablas de supervivencia a recidivas comparando los meningiomas craneales y raquídeos, observamos una clara diferencia entre la probabilidad de recidiva entre los dos grupos. Además, los raquídeos que recidivan lo hacen más tarde que los craneales, lo que implicaría un menor potencial proliferativo, que estaría de acuerdo con el hallazgo de que los meningiomas atípicos y malignos son raros en el raquis (3.3% vs 13.4%, R vs C). Sin embargo esta menor tasa proliferativa no queda reflejada en los datos de citometría de flujo en nuestra serie: las diferencias de los índices de proliferación medios de los meningiomas craneales y raquídeos son mínimas y sin embargo las recidivas son mucho menores en el raquis, aunque las dos únicas recidivas del raquis tenían unos índices de proliferación (15.5 y 17.5) marcadamente más altos que la media (13.1). El índice de DNA del único meningioma del raquis que fue aneuploide fue de los más altos (1.93) y sin embargo no recidivó.

Nuestra menor tasa de casos atípicos y anaplásicos en el raquis no ha llegado a ser significativa, probablemente porque sólo tenemos un caso en esta localización. Guthrie¹²⁸ en su revisión de 44 casos, encuentra solo dos hemangiopericitomas en el raquis (4.3%) y su comportamiento fue totalmente distinto a los craneales, ya que éstos tuvieron una supervivencia media de 60 meses, mientras que uno de los raquídeos vivía a los 20 años y el otro murió a los 251 meses.

De nuestros resultados comparativos de los tipos histológicos que más han recidivado (meningoteliales y fibroblásticos), es interesante hacer notar que el mayor porcentaje se da en el raquis, y en cambio

es la localización con menos recidivas, aunque las dos únicas fueron

meningoteliales. El único fibroblástico del raquis que además era el único de grado II y con el segundo valor más alto de AgNORs (1.92) no recidivó después de un seguimiento de 81 meses. De nuevo parece que los meningiomas del raquis se comportan de manera distinta a los craneales.

En los meningiomas, no hemos encontrado la correlación de la mayor tasa de aneuploidía con la localización en la convexidad, como otros autores,^{54,356} pero en la convexidad es donde mayor porcentaje de meningiomas de grado II hemos encontrado. Es significativo nuestro hallazgo de la gran diferencia que existe en los valores de aneuploidía entre los meningiomas craneales y raquídeos. Se han encontrado más alteraciones cromosómicas en los meningiomas de la convexidad,²⁶² lo que podría indicar la existencia de una línea potencialmente más inestable genéticamente dependiendo de la localización de la célula aracnoidea que explicara el distinto comportamiento de los meningiomas raquídeos.

Los AgNORs de las recidivas del raquis tuvieron valores contrapuestos, pues uno tenía uno de los valores más altos (1.87, caso 71) y el otro el más bajo (1.40, caso 75). Al igual que con los meningiomas craneales, los valores de AgNORs no han resultado ser un factor pronóstico para las recidivas en nuestra serie, pero los valores medios de AgNORs fueron significativamente más bajos en los raquídeos.

En la literatura no hemos encontrado trabajos que comparen los valores de ploidía, AgNORs y grado entre los meningiomas craneales y raquídeos.

A la vista de nuestros resultados, creemos interesante y necesario continuar en la línea de investigación comparativa entre ambas localizaciones, posiblemente mediante estudios multicéntricos con mayor número de pacientes, y quizás así consigamos explicarnos mejor el distinto comportamiento biológico que exhiben.

CONCLUSIONES

7. CONCLUSIONES

*"Todo placer esperado
es mayor que el obtenido".*

Metastasio: Demetrio

1. (a) Los distintos tipos histológicos clásicos no son útiles para predecir la recidiva.

(b) La existencia de necrosis se relacionó significativamente con la recidiva.

(c) Los meningiomas parasagitales tiene un riesgo de recidiva significativamente mayor que los de la convexidad o raquis.

(d) La recidiva no depende del tipo de cirugía empleado (coagulación versus extirpación dural).

2. Los meningiomas de grado II recidivan más, más rápido y tienen una mortalidad del 39.3% al 2º año. Deben seguirse estrechamente durante los dos primeros años para el diagnóstico precoz de recidivas.

La gradación de los meningiomas ha sido útil y nos parece imprescindible.

3. La aneuploidía fue más frecuente en las recidivas.

4. El Índice de proliferación ($PI = G_2M + S$) fue más alto en las recidivas y se correlacionó significativamente con el riesgo de recidiva. Los meningiomas con $PI > 15$ tienen una probabilidad de recidiva a los 7 años del 64.3%.

5. Los datos de citometría de flujo no se correlacionaron con los grados de malignidad ni con los tipos histológicos.

6. El número de AgNORs fue más alto en las recidivas y se correlacionó con el grado de malignidad, la existencia de necrosis y los tipos histológicos que más recidivaron.

7. No hubo correlación entre los datos de citometría de flujo y AgNORs.

8. El riesgo de recidiva de los meningiomas craneales a los 7 años es el doble que el de los raquídeos.

Los meningiomas raquídeos recidivan más tarde, por lo que su seguimiento debe ser más dilatado.

9. Los meningiomas raquídeos, muestran menor tasa de anaplasia y sus valores de citometría de flujo y AgNORs son significativamente más bajos que sus homónimos del cráneo, lo que indica un distinto comportamiento biológico.

10. La DNA-citometría de flujo y los AgNORs han sido útiles para el estudio de la capacidad proliferativa de los meningiomas y en la predicción de su comportamiento biológico, representando un complemento de la histología.

11. Deben realizarse más estudios, con mayor número de casos, mediante genética, citocinética y receptores hormonales que validen nuestros resultados y puedan contribuir a la explicación del distinto comportamiento entre los meningiomas craneales y raquídeos.

BIBLIOGRAFIA

8. BIBLIOGRAFIA

1. Aaronson S. Growth factors and cancer. Science 1991;254:1146-1153.
2. Adegbite AB, Khan MI, Paine KWE, Tan LK. The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. J Neurosurg 1983;58:51-56.
3. Ahyai A, Zimmermann A, Spaar FW. Flow fluorescence cytometry of desoxyribonucleic acid in meningiomas: studies on surgically removed tumors specimens compared with their cells in primary tissue cultures. Surg Neurol 1983; 20:194-205.
4. Ahyai A, Spaar FW. DNA and prognosis of meningiomas : a comparative cytological and fluorescence-cytophotometrical study of 71 tumors. Acta Neurochir (Vienna) 1987;87:119-128.
5. Alguacil-García A, Pettigrew NM, Sima AAF. Secretory meningioma: a distinct subtype of meningioma. Am J Surg Pathol 1986; 10:102-111.
6. Alvarez F, Roda JM, Romero MP, Morales C, Sarmiento MA, Blázquez MG. Malignant and atypical meningiomas: a reappraisal of clinical, histological, and computed tomographic features. Neurosurgery 1987;20:688-694.
7. Annegers JF, Laws ER Jr, Kurland LT, Grabow JD. Head trauma and subsequent brain tumors. Neurosurgery 1979; 4:203-206.

8. Appley AJ, Fitzgibbons PL, Chandrasoma PT, Hinton DR, Apuzzo MLJ. Multiparameter flow cytometric analysis of neoplasms of the central nervous system: correlation of nuclear antigen p105 and DNA content with clinical behavior. *Neurosurgery* 1990; 27:83-96.
9. Armitage NC, Robias RA, Evans DF, Turner DR, Baldwin RW, Hardcastle JD. The influence of tumour cell DNA abnormalities on survival in colorectal cancer. *Br J Surg* 1985; 72:828-830.
10. Arnoldus EP, Wolters LB, Voormolen JH, Van Duinen SG, Raap AK, Van der Ploeg M, Peters AC. Interphase cytogenetics: a new tool for the study of genetic changes in brain tumors. *J Neurosurg* 1992; 76:997-1003.
11. Artlich A, Schmidt D. Immunohistochemical profile of meningiomas and their histological subtypes. *Hum Pathol* 1990; 21:843-849.
12. Atkin NB, Kay R. Prognostic significance of modal DNA value and other factors in malignant tumors, based on 1465 cases. *Br J Cancer* 1979; 40:210-221.
13. Auer GU, Caspersson TO, Wallgren AS. DNA content and survival in mammary carcinoma. *Anal Quant Cytol* 1980; 2:161-165.
14. Bagni A, Botticelli A, Martinelli A, Azzoni P, Trentini GP. AgNOR in recurrent and non-recurrent meningiomas. *Histopathology* 1991; 19:465-46.

15. Bailey P, Cushing H, Eisenhardt L. Angioblastic meningiomas. *Arch Pathol* 1928; 6:953-990.
16. Bailey O, Buchanan DN, Bucy PC. Intracranial tumors Infancy and Childhood. Chicago, University of Chicago Press, 1948, pp 441-500.
17. Balasubramaniam C, Armstrong D, Cheek W, Laurent J. Postradiation meningioma in a child. *Pediatr Neurosci* 1988; 14:319-323.
18. Barbanti-Brodano G, Silini E, Mottes M. Probes to evaluate the possible association of papovaviruses with human tumors. In Gallo RC (eds): *Monoclonal and DNA probes in diagnostic and preventive medicine*. New York: Raven Press, 1987; 147-155.
19. Baserga R, Wiebel F. The cell cycle of mammalian cells. *Int Rev Exp Pathol* 1969; 7:1-30.
20. Baserga R. The cell cycle. *New Engl J Med* 1981; 304: 453-459.
21. Begg AC, McNally NJ, Shrieve DC. A method to measure the duration of the DNA synthesis and the potential doubling time from a single sample. *Cytometry* 1985; 6: 627-632.
22. Bello MJ, de Campos JM, Vaquero J, Kusak ME, Sarasa JL, Rey JA, Pestana A. Chromosome 22 heterozygosity is retained in most hyperdiploid and pseudodiploid meningiomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1993; 66:117-9.

23. Bello MJ, de Campos JM, Kusak ME, Vaquero J, Sarasa JL, Pestana A, Rey JA. Allelic loss at 1p is associated with tumor progression of meningiomas. *Genes Chromosom Cancer* 1994; 9:296-298.
24. Benedict WF, Porter IH, Brown CD, Florentin RA. Cytogenetic diagnosis of malignancy in recurrent meningioma. *Lancet* 1970; 1:971-973.
25. Bichel P, Poulson HS, Anderson J. Estrogen receptor content and ploidy of human mammary carcinoma. *Cancer* 1982; 50:1771-1774.
26. Bickerstaff ER, Small JM, Guest IA. The relapsing course of certain meningiomas in relation to pregnancy and menstruation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1958; 21:81-91.
27. Bishop J. Molecular themes in oncogenesis. *Cell* 1991; 64:235-248.
28. Blaauw G, Blankenstein MA, Lamberts SW. Sex steroid receptors in human meningiomas. *Acta Neurochir (Wien)* 1986; 79: 42-47.
29. Black P.McL. Meningiomas. *Neurosurgery* 1993; 32:643-657.
30. Blankenstein MA, Blaauw G, Lamberts SW, Mulder E. Presence of progesterone receptors and absence of estrogen receptors in human intracranial meningioma cytosols. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1983; 19:365-370.

31. Boccadoro M, Massaia M, Dianzani U, Pileri A. Multiple myeloma: biological and clinical significance of bone marrow plasma cell labelling index. *Haematologica* 1987; 72:171-175.
32. Boker DK, Meurer H, Gullota F. Recurring intracranial meningiomas. Evaluation of some factors predisposing for tumor recurrence. *J Neurosurg Sci* 1985;29:11-17.
33. Bookwalter JW, Selker RG, Schiffer L, Randall M, Iannuzzi D, Kristofik M. Brain-tumor cell kinetics correlated with survival. *J Neurosurg* 1986;65:795-798.
34. Boon AP, Sharif H. Value of AgNOR method in predicting recurrence of meningioma. *J Clinical Pathol* 1989; 9:1002-1003 (letter).
35. Borovich B, Doron Y, Braun J, Guilburd J, Zaaroor M, Goldsher D, Lemberger A, Gruszkiewicz J, Feinsod M. Recurrence of intracranial meningiomas: the role played by regional multicentricity. Part 2: clinical and radiological aspects. *J Neurosurg* 1986-b;65: 168-171.
36. Borovich B, Doron Y. Recurrence of intracranial meningiomas: the role played by regional multicentricity. *J Neurosurg* 1986-a; 64: 58-63.
37. Braylan RC, Diamond LW, Powell ML, Harty Golder B. Percentage of cells in the S phase of the cell cycle in human lymphoma determined by flow cytometry. Correlation with labelling index and patient survival. *Cytometry* 1980; 1:171-174.

38. Braylan RC, Benson NA, Nourse VA. Cellular DNA of human neoplastic cells measured by flow cytometry. *Cancer Res* 1984; 44:5010-5016.
39. Brentani MM, Lopes MT, Martins VR, Plese JP. Steroid receptors in intracranial tumors. *Clin Neuropharmacol* 1984; 7:347-350
40. Bresciani F, Paoluzi R, Benassi M, Nervi C, Casale C, Ziparo E. Cell kinetics and growth of squamous cell carcinomas in man. *Cancer Res* 1974; 34:2405-2415.
41. Budka H. Hyaline inclusions (pseudopsammoma bodies) in meningiomas: immunocytochemical demonstration of epithelial-like secretion of secretory component and immunoglobulins. *Acta Neuropathol (Berl)* 1982; 56:294-298.
42. Burger PC, Vogel FS. *Surgical pathology of the nervous system and its coverings*. New York-London-Toronto: John Wiley & sons, 1976.
43. Burger PC, Vogel FS, eds. *Surgical pathology of the nervous system and its coverings*, 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1982.
44. Burger PC, Shibata T, Kleihues P. The use of the monoclonal antibody Ki-67 in the identification of proliferating cells: Application to surgical neuropathology. *Am J Surg Pathol* 1986;10(9):611-617.

45. Burger PC, Shibata T, Kleihues P. Proliferation markers for neoplasms of the nervous system. In: Advances in Immunohistochemistry. Ed. R.A. De Lellis. Raven Press, New York 1988.
46. Burger PC, Kleihues P. Cytologic composition of the untreated glioblastoma with implications for evaluation of needle biopsies. *Cancer* 1989; 63:2014-2023.
47. Burns B, Curry RH, Bell MEA. Morphological features of prognostic significance in uterine smooth muscle tumors: a review of eighty four cases. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 135:109-114.
48. Butler AB, Netsky MG. Growth of brain tumors. In : Neurological surgery 1973; pp 1314-1316. Youmans Jr (ed), W.B.Saunders Company.
49. Cahill DW, Bashirelahi N, Solomon LW, Dalton T, Saloman M, Ducker T. Estrogen and progesterone receptors in meningiomas. *J Neurosurg* 1984; 60:985-993.
50. Calogero JA, Moossy J. Extradural spinal meningiomas: report of four cases. *J Neurosurg* 1972;37:442-447.
51. Campio L, Robustelli Della Cuna G, Taylor RWE. Role of medroxyprogesterone acetate in endocrine-related tumors. Vol 2. New York: Raven Press, 1983:1-216.
52. Cantini R, Burchianti M, Fabrini Mg, Valleriani A. Postirradiation meningioma. *Childs Nerv Syst* 1987; 3:382-384.

53. Carroll RS, Zang J, Dashner K, sar M, Wilson EM, Black PML. Androgen receptor expression in meningiomas. *J Neurosurg* 1995; 82:453-460.
54. Casalone R, Simi P, Granata P, Minelli E, Giudici A, Butti G, Solero CL: Correlation between cytogenetic and histopathological findings in 65 human meningiomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1990; 45:237-243.
55. Casartelli C, Rogatto SR, Barbieri Neto J. Karyotypic evolution of human meningioma. Progression through malignancy. *Cancer Genet Cytogenet* 1989; 40:33-45.
56. Cervós-Navarro J, Martins LF, Lazaro MC. Ultrastructure of malignant meningioma and meningosarcoma. *Acta Neurochir* 1975; 31:276-277 (Abstract).
57. Challa VR, Moody DM, Marshall RB, Kelly DL. The vascular component in meningiomas associated with severe cerebral edema. *Neurosurgery* 1980; 7:363-368.
58. Chan RC, Thompson GB. Morbidity, mortality, and quality of life following surgery for intracranial meningiomas. *J Neurosurg* 1984; 60:52-60.
59. Chen WY, Liu HC. Atypical (anaplastic) meningioma: relationship between histological features and recurrence - a clinicopathologic study. *Clin Neuropathol* 1990; 9:74-81.

60. Chin LS, Hinton DR. The standardized assesment of argyrophilic nucleolar organizer regions in meningeal tumors. *J Neurosurg* 1991;74:590-596.
61. Cho KG, Hoshino T, Nagashima T, Murovic JA, Wilson CB. Prediction of tumor doubling time in recurrent meningiomas: cell kinetic studies with bromodeoxyuridine labeling. *J Neurosurg* 1986;65:790-794.
62. Chou SM, Miles JM. The pathology of meningiomas, in Al-Mefty O (ed): *Meningiomas*. New York, Raven Press , 1991, pp 37-39.
63. Christensen D, Laursen H, Klinken L. Prediction of recurrence in meningiomas after surgical treatment: a quantitative approach. *Acta Neuropathol (Berl)* 1983;61:130-134.
64. Cleland J. Description of two tumours adherent to the deep surface of the dura-mater. *Glasgow Med J* 1864;11:148-159.
65. Coffey RJ, Cascino TL, Shaw EG. Radiosurgical treatment of recurrent hemangiopericytomas of the meninges: preliminary results. *J Neurosurg* 1993;78:903-908.
66. Coezy E, Borgna JL, Rochefort H. Tamoxifen and metabolites in NCF7 cells: correlation between binding to estrogen receptor and inhibition to cell growth. *Cancer Res* 1982; 42:317-323.

67. Cogen PH, Daneshvar L, Bowcock AM. Loss of heterozygosity for chromosome 22 DNA sequences in human meningioma. *Cancer Genet Cytogenet* 1991;53:271-277.
68. Collins VP, Mordenskjold M, Dumanski JP. The molecular genetics of meningiomas. *Brain Pathology* 1990; 1:19-24.
69. Concolino G, Giuffre R, Margiotta G, Liccardo G, Marocchi A. Steroid receptors in central nervous system: estradiol (ER) and progesterone (PR) receptors in human spinal cord tumors. *J Steroid Biochem* 1984; 20:491-494.
70. Concolino G, Liccardo G, Conti C, Panfili C, Giuffre R. Hormones and tumours in central nervous system (CNS): steroid receptors in primary spinal cord tumours. *Neurol Res* 1984; 6:121-126.
71. Coon JS, Landay AL, Weinstein RS. Flow cytometric analysis of paraffin embedded tumors. Implications for diagnostic pathology. *Human Pathol* 1986; 117:435.
72. Coon JS, Landay AL, Weinstein RS. Biology of disease. Advances in flow cytometry for diagnostic pathology. *Lab Invest* 1987; 57:453-479.
73. Coons SW, Johnson PC, Scheithauer BW, Yates AJ, Pearl DK. Improving interobserver correlation in the classification and grading of gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993 (abstract); 32:288.

74. Coons SW, Johnson PC, Pearl DK. Prognostic significance of flow cytometry deoxyribonucleic acid analysis of human astrocytomas. *Neurosurgery* 1994; 35:119-126.
75. Coulson PB, Thornthwaite JR, Wolley TW, Sugarbaker EV, Seckinger D. Prognostic indicators including DNA histogram type, receptor content and staging related to human breast cancer survival. *Cancer Res* 1984; 44:4187-4196.
76. Crocker J, Nar P. Nucleolar organizer regions in lymphomas. *J Pathol* 1987; 151:111-118.
77. Crocker J, Macartney JC, Smith PJ. Correlation between DNA flow cytometric and nucleolar organizer region data in non-Hodgkin's lymphomas. *J Pathol* 1988; 154:151-156.
78. Crocker J, Boldy DAR, Egan MJ. How should we count AgNORs? Proposals for a standardized approach. *J Pathol* 1989; 158:185-188.
79. Crocker J, Macartney JC, Smith PJ. Correlation between DNA flow cytometric and nucleolar organizer region data in non Hodgkins lymphomas. *J Pathol* 1988;154:151-156.
80. Crompton MR, Gautier smith PC. The prediction of recurrence in meningiomas. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1970; 33: 80-87.

81. Crone KR, Challa VR, Kute TE, Moody DM, Kelly DL Jr. Relationship between flow cytometric features and clinical behavior of meningiomas. *Neurosurgery* 1988; 23:720-724.
82. Cushing H, Wed LH. Studies on the cerebrospinal fluid and its pathway, No IX. Calcareous and osseous deposits in the arachnoidea. *John Hopkins Hospital Bull*- 1915;26:367-372.
83. Cushing H, Eisenhardt L. Meningiomas: Their classification, regional behavior, life history, and surgical end results. Springfield, IL, Charles C Thomas, 1938.
84. D'Amore ESG, Manivel C, Sung JH. Soft tissue and meningeal hemangiopericytomas. *Hum Pathol* 1990;21:414-423.
85. Danova M, Riccardi A, Gaetani P, Wilson GD, Mazzini G, Brugnatelli S, Buttini R, Butti G, Ucci G, Paoletti P, Ascari E. Cell kinetics of human brain tumors: In vivo study with bromodeoxyuridine and flow cytometry. *Eur J cancer Clin Oncol* 1988; 24: 873-880.
86. Dardick I, Hammer SP, Scheithauer BW. Ultrastructural spectrum of hemangiopericytoma: a comparative study of fetal, adult, and neoplastic pericytes. *Ultrastruct Pathol* 1989; 13:111-154.
87. Darzynkiewicz Z, Evenson DP, Staiano-Coico L, Sharpless TK, Melamed ML. Correlation between cell cycle duration and RNA content. *J Cell Physiol* 1979; 100:425-438.

88. Dean PN, Dolbeare FA, Gratzner HG, Rice GC, Gray JW. Cell cycle analysis using a monoclonal antibody to BrdUrd. *Cell Tissue Kinet* 1984; 17: 427-436.
89. de la Monte SM, Flickinger J, Linggood RM. Histopathologic features predicting recurrence of meningiomas following subtotal resection. *Am J Surg Pathol* 1986;10:836-843.
90. Detta A, Hitchcock E. Rapid estimation of the proliferation index of brain tumours. *J Neurooncol* 1990; 8:245-253.
91. Detta A, Kenny BG, Smith C, Logan A, Hitchcock E. Correlation of proto-oncogene expression and proliferation in meningiomas. *Neurosurgery* 1993; 33:1065-1074.
92. Dixon WJ, Brown MB, Engelman L, et al. BMDP statistical software 1981. Berkeley: University of California Press, 1983: 555-594.
93. Donnell MS, Meyer GA, Donegan WL. Estrogen-receptor protein in intracranial meningiomas. *J Neurosurg* 1979; 50:499-502.
94. Ducrot P, Joundi A, Diebold MD, Pluot M. Valeur des marqueurs nucléolaires (AgNOR) dans les gliomes cérébraux. *Arch Anat Cytol Pathol* 1991; 39:88-93.
95. Dumanski J, Rouleau G, Nordenskjöld M, Collins V. Molecular genetic analysis of chromosome 22 in 81 cases in meningioma. *Cancer Res* 1990; 50:5863-5867.

96. Early CB, Sayers MP. Spinal epidural meningioma. Case report. *J Neurosurg* 1966; 25:571-573.
97. Egan MJ, Crocker J. Nucleolar organizer regions in cutaneous tumours. *J Pathol* 1988; 154:247-253.
98. Egerter DA, Said JW, Epling S, Lee S. DNA content of T-cell lymphomas. A flow cytometric analysis. *Am J Pathol* 1988; 130:326-334.
99. Ellis PSJ, Whitehead R. Mitosis counting-a need for reappraisal. *Hum Pathol* 1981; 12:3-4.
100. Everitt BS. The analysis of contingency tables. Chapman & Hall, 1977.
101. Fabiani A, Trebini F, Favero M. The significance of atypical mitosis in malignant meningiomas. *Acta Neuropathol (Berl)* 1977; 38:229-231.
102. Fallowfield ME, Cook MG. Nucleolar organizer regions in melanocytic dysplasia. *J Pathol* 1988; 154:45a-46a.
103. Feiring EH, Barron K. Late recurrence of spinal-cord meningioma. *J Neurosurg* 1962; 19:652-656.
104. Fidler IJ, Hart IR. Biological diversity in metastatic neoplasms: origins and implications. *Science* 1982; 217:998-1003.

105. Frederiksen P, Reske-Nielsen E, Bichel P. DNA content of meningiomas. *Acta Neuropathol* 1979; 46:65-68.
106. Friendlander ML, Taylor IW, Russell P, Musgrove EA, Hedley DW, Tattersall MHN. Ploidy as a prognostic factor in ovarian cancer. *Int J Gynecol Pathol* 1983; 2:55-63.
107. Friendlander ML, Hedley DW, Taylor IW, Russell P, Coates AS, Tattersall MHN. Influence of cellular DNA content on survival in advanced ovarian cancer. *Cancer Res* 1984; 44:397-400.
108. Friendlander ML, Hedley DW, Taylor IW. Clinical and biologic significance of aneuploidy in human tumors. *J Clin Pathol* 1984-a; 37:961-974.
109. Friendlander ML, Hedley DW, Swanson C, Russell P. Prediction of long term survival by flow cytometric analysis of cellular DNA content in patients with advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol* 1988; 6:282-290.
110. Frierson HR Jr. Flow cytometric analysis of ploidy in solid neoplasms: comparison of fresh tissues with formalin-fixed paraffin-embedded specimens. *Hum Pathol* 1988; 19:290-294.
111. Gansler T, Chatten J, Varello M, Bunin GR, Atkinson B. Flow cytometric DNA analysis of neuroblastoma. Correlation with histology and clinical outcome. *Cancer* 1986; 58:2453-2458.

112. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983; 31:13-20.
113. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, Wacker HH, Schwab U, Stein H. Cell cycle analysis of a cell proliferation associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984; 133:1710-1715.
114. Giri DD, Nottingham JF, Lawry J, Dundas SAC, Underwood JCE. Silver-binding nucleolar organizer regions (AgNORs) in benign and malignant breast lesions: correlations with ploidy and growth phase by DNA flow cytometry. *J Pathol* 1989; 157:307-313.
115. Giuffré R. Successful radical removal of an intracranial meningioma in 1835 by Professor Pecchioli of Siena. *J. Neurosurg* 1984; 60: 47-51.
116. Glantz MJ, Burger PC, Herndon JE, Friedman AH II, Cairncross JG, Vick NA, Schold SC Jr. Influence of the type of surgery on the histological diagnosis in patients with anaplastic gliomas. *Neurology* 1991; 41:1741-1744.
117. Globus JH, Zucker JM, Rubinstein JM. Tumors of the brain in children and adolescents-a clinic and anatomic survey of ninety-two verified cases. *Am J Dis Child* 1943; 65:604-663.
118. Goellner JR, Laws ER, Soule EH, Okazaki H. Hemangiopericytoma of the meninges. Mayo Clinic experience. *Am J Clin Pathol* 1978; 70:375-80.

119. Goodman JC. Flow cytometric DNA analysis and prognosis in gliomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993; 51:340 (abstract).
120. Goodpasture C, Bloom SE. Visualisation of nucleolar organizer regions in mammalian chromosome using silver staining. *Chromosoma* 1975; 53:37-50.
121. Gratzner HG. Monoclonal antibody to 5-bromo-and 5-iododeoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication. *Science* 1982;218:474-475.
122. Grant FC. Intracranial meningiomas, surgical results. *Surg Gynecol Obstet* 1947;85:419-431.
123. Griffin NR, Howard MR, Quirke P, O'Brien CH, Child JA, Bird CC. Prognosis in centroblastic-centrocytic lymphoma. *J Clin Pathol* 1988; 41:866-870.
124. Griffiths AP, Butler CW, Roberts P, Dixon MF, Quirke P. Silver-stained structures (AgNORs), their dependence on tissue fixation and absence of prognostic relevance in rectal adenocarcinoma. *J Pathol* 1989; 159:121-127.
125. Gullota F, Wüllenweber R. Zur Frage der malignen Entartung bei Meningeom-Recidiv. *Acta Neurochir (Wien)* 1968; 18: 15-27.
126. Gupta PK, Sastry Kolluri VR, Das S, et al. Recurrences in meningioma after surgery. *Acta Neurochir* 1989; 100:104-107.

127. Gustafson H, Tribukait B, Esposti PL. DNA profile and tumour progression in patients with superficial bladder tumours. *Urol Res* 1982; 10:13-18.
128. Guthrie BL, Ebersold MJ, Scheithauer BW, Shaw EG. Meningeal hemangiopericytoma: histopathological features, treatment, and long-term follow up of 44 cases. *Neurosurgery* 1989;25:514-522.
129. Hall PA, Crocker J, Watt A, Stansfeld AG. Comparison of nucleolar organizer region staining and Ki-67 immuno-staining in non-Hodgkin's lymphoma. *Histopathol* 1988; 12:373-391.
130. Hara A, Noboru S, Yamada H, Hirayama H, Tanaka T, Mori H. Nucleolar organizer regions in vascular and neoplastic cells of human gliomas. *Neurosurgery* 1991; 29:211-215.
131. Harkey HL, Crockard HA. Spinal meningiomas: clinical features. In: Al-Mefty O, ed. *Meningiomas*. Raven Press, Ltd., New York 1991, 593-601.
132. Hayward E, Whitwell H, Paul KS, Barnes DM: Steroid receptors in human meningiomas. *Clin Neuropharmacol* 1984; 7:351-356.
133. Hecht F, Hecht BK. The telomere in cancer. All's not well that doesn't end well. *Cancer Genet Cytogenet* 1991; 54:245-246.

134. Hedley DW, Friendlander ML, Taylor IW, Rugg CA, Musgrove EA. Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry. *J Histochem Cytochem* 1983; 31:1333-1335.
135. Hedley DW, Rugg CA, Ng AB, Taylor IW. Influence of cellular DNA content on disease free survival of stage 11 breast cancer patients. *Cancer Res* 1984; 44:5395-5398.
136. Hedley DW. Flow cytometry using paraffin-embedded tissue: five years on. *Cytometry* 1989; 10:229-241.
137. Heiskanen O. Benign extramedullary tumors in the high cervical region. *Ann Chir Gynaecol Fenn* 1968; 57:59-62.
138. Heller IM, Elliot KAC. Desoxyribonucleic acid content and cell density in brain and human brain tumors. *Canad J Biochem Physiol* 1954;32:584-592.
139. Hiddemann W, Schumann J, Andreeff M, Barlogie B, Herman CJ, Leif RC, Mayall BH, Murphy RF, Sandberg AA. Convention on nomenclature for DNA cytometry. *Cytometry* 1984; 5:445-446.
140. Hinton D, Mobbs EG, Sima AA, Hanna W. Steroid receptors in meningiomas . A histochemical and biochemical study. *Acta Neuropathol* 1983; 62:134-140.
141. Hoessly GF, Olivecrona H. Report of 280 cases of verified parasagittal meningiomas. *J Neurosurg* 1955;12:614-626.

142. Horten BC, Urich H, Rubinstein LJ, Montague SR. The angioblastic meningioma: a reappraisal of the nosological problem. *J Neurol Sci* 1977;31:387-410.
143. Hoshino T, Wilson CB, Ellis WG. Gemistocytic astrocytes in gliomas. An autoradiographic study. *J Neuropathol Exp Neurol* 1975;34:263-28.
144. Hoshino T, Nomura K, Wilson CB, Knebel KD, Gray JW. The distribution of nuclear DNA from human brain-tumors cells. Flow cytometric studies. *J Neurosurg* 1978; 49:13-21
145. Hoshino T, Wilson CB. Cell Kinetic analyses of human malignant brain tumors (gliomas). *Cancer* 1979;44:956-962.
146. Hoshino T, Townsend JJ, Muraoka I, Wilson CB. An autoradiographic study of human gliomas: growth kinetics of anaplastic astrocytoma and glioblastoma multiforme. *Brain* 1980;103:967-984.
147. Hoshino T. Cellular aspects of human brain tumors (gliomas), in Fedoroff SA, Hertz L (eds). *Advances in cellular neurobiology*. New York: Academic Press 1981, Vol 2, pp 167-204.
148. Hoshino T. A commentary on the biology and growth kinetics of slow grade and high grade gliomas. *J Neurosurg* 1984; 61:895-900.
149. Hoshino T, Kobayashi S, Townsend JJ, Wilson CB. A cell Kinetic study on medulloblastomas. *Cancer* 1985; 55:1711-1713

150. Hoshino T, Nagashima T, Murovic J, Levin EM, Levin VA, Rupp SM. Cell kinetic studies of in situ human brain tumors with bromodeoxyuridine. *Cytometry* 1985-b; 6:627-632.
151. Hoshino T, Nagashima T, Murovic JA, Wilson CB, Edwards MSB, Gutin PH, Davis RL, De Armond SJ. In situ cell kinetics studies on human neuroectodermal tumors with bromodeoxyuridine labeling. *J Neurosurg* 1986-a; 64:453-459.
152. Hoshino T, Nagashima T, Murovic JA, Wilson CB, Davis RL. Proliferative potential of human meningiomas of the brain. A cell kinetics study with bromodeoxyuridine. *Cancer* 1986-b;58:1466-1472.
153. Howat AJ, Giri DD, Wright AL, Underwood JCE. Silver-stained nucleoli and nucleolar organizer region counts are of no prognostic value in thick cutaneous malignant melanoma. *J Pathol* 1988; 156:227-232.
154. Ibelgaufte H, Jones KW, Maitland N, Shaw JF. Adenovirus related RNA sequences in human neurogenic tumors. *Acta Neuropathol (Berl)* 1982; 56:113-117.
155. Inohue H, Tamamura M, Koizumi H, Nakamura M, Naganuma H, Ohye C. Clinical pathology of malignant meningiomas. *Acta Neurochir* 1984; 73:179-191.

156. Ironside JW, Battersby RD, Dangerfield VJ, Parsons MA, Timperley WR, Underwood JC. Cryostat section assay of estrogen and progesterone receptors in meningiomas: A clinicopathological study. *J Clin Pathol* 1986; 39:44-50.
157. Ironside JW, Battersby RD, Lawry J, Loomes RS, Day CA, Timperley WR, Path FRC. DNA in meningioma tissues and explant cell cultures: A flow cytometric study with clinicopathological correlates. *J Neurosurg* 1987; 66:588-594.
158. Israel N, Saez S. Relation between steroid receptor content and the response to hormone addition in isolated human breast cancer cells in short-term culture. *Cancer Res* 1978; 38:4314-4317.
159. Iversen OE, Kaarland E. Ploidy assesment of bening and malignant ovarian tumors by flow cytometry. *Cancer* 1987; 60:82-87.
160. Iwaki T, Takeshita I, Fukui M, Kitamura K. Cell Kinetics of the malignant evolution of meningotheial meningioma. *Acta Neuropathol (Berl)* 1987; 74:243-247.
161. Iwaki T, Fukui M, Takeshita I, Tsuneyashi M, Tateishi J. Hemangiopericytoma of the meninges: a clinicopathologic and immunohistochemical study. *Clin Neuropathol* 1988; 7:93-99.
162. Jääskeläinen J, Haltia M, Laasonen E, Wahlstrom T, Valtonen S. The growth rate of intracranial meningiomas and its relation to histology. An analysis of 43 patients. *Surg Neurol* 1985-a; 24:165-172.

163. Jääskeläinen J, Servo A, Haltia M, Wahlström T, Valtonen S. Intracranial hemangiopericytoma: radiology, surgery, radiotherapy, and outcome in 21 patients. *Surg Neurol* 1985-b;23:227-236.
164. Jääskeläinen J, Haltia M, Servo A. Atypical and anaplastic meningiomas: Radiology, Surgery, radiotherapy, and outcome. *Surg Neurol* 1986; 25:233-242.
165. Jääskeläinen J, Laasonen E, Kärkkäinen J, Troupp H. Hormone treatment of meningiomas: lack of response to medroxyprogesterone acetate (MPA). A pilot study of five cases. *Acta Neurochir* 1986-b; 80:35-41
166. Jääskeläinen 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-c; 26:461-469.
167. Jakobsen A, Mommsen S, Olsen S. Characterization of ploidy level in bladder tumors and selected site specimens by flow cytometry. *Cytometry* 1983; 4:170-173.
168. Jan-Mohamed RM, Armstrong SJ, Crocker J, Leyland MJ, Hulten MA. The relationship between numbers of interphase NORs and NOR-bearing chromosomes in non-Hodgkin lymphomas. *J Pathol* 1989; 158:3-7.
169. Jay JR, MacLaughlin DT, Riley KR, Martuza RL. Modulation of meningioma cell growth by sex steroid hormones in vitro . *J Neurosurg* 1985; 62:757-762.

170. Jellinger K, Slowik F. Histological subtypes and prognostic problems in meningiomas. *J Neurol* 1975; 208:279-298
171. Jellinger K. Biologic behavior in meningiomas. In: Fields WS (ed) *Primary brain tumors. A review of histologic classification.* Springer-Verlag, New York, 1989:231-279.
172. Joensuu H, Kleini Pj, Eerola E. Diagnostic value of flow cytometry combined with fine needle aspiration biopsy in lymphomas. *J Pathol* 1988; 154:237-245.
173. Kabus D, Sidhu GS, Wieczorek RL, Choi H-S H. Metastatic meningioma: hemangiopericytoma or angioblastic meningioma?. *Am J Surg Pathol* 1993; 17:1144-1150.
174. Kajikawa H, Kawamoto K, Herz F, Wolley RC, Hirano A, Koss LG. Flow-through cytometry of meningiomas and cultured meningioma cells. *Acta Neuropathol* 1978; 44:183-187.
175. Kamel OW, Franklin WA, Ringus JC, Meyer JS. Thymidine labelling index and Ki 67 growth fraction in lesions of the breast. *Am J Pathol* 1989; 134:107-113.
176. Kepes JJ. Observations on the formation of psammoma bodies and pseudopsammoma bodies in meningiomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 1961; 20:255-262.
177. Kepes JJ, Mac Gee EE, Vergara G, Sil R. A case report. malignant meningioma with extensive pulmonary metastasis. *Kans Med Soc J* 1971; 72:312-316.

178. Kepes JJ. The fine structure of hyaline inclusions (pseudopsammoma bodies) in meningiomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 1975; 34:282-289.
179. Kepes JJ. Meningiomas: Biology, pathology and differential diagnosis. In: *Masson Monographs in Diagnostic Pathology*. New York: Masson Publishing USA, Inc., 1982:87-90.
180. Kepes JJ. Presidential address. The histopathology of meningiomas. A reflection of origins and expected behavior? *J Neuropathol Exp Neurol* 1986; 45:95-107.
181. Kernohan JW, Uihlein A. In *Sarcomas of the brain*. Springfield, IL, Charles C Thomas, 1962; 108-119.
182. King AB. Neurologic conditions occurring as complications of pregnancy. *Arch Neurol Psychiat* 1950; 63:471-644.
183. Kinjo T, Al-Mefty O, Kanaan I. Grade zero removal of supratentorial convexity meningiomas. *Neurosurgery* 1993; 33:394-399.
184. Kleihues P, Burger PC, Scheithauer BW. Histological typing of tumors of the central nervous system. World Health Organization, International Classification of tumors. Berlin: Springer-Verlag, 1993.
185. Kleinman GM, Liszczak T, Tarlov E, Richardson EP Jr. Microcystic variant of meningioma: a light-microscopic and ultrastructural study. *Am J Surg Pathol* 1980; 4:383-389.

186. Knudson AG Jr. Hereditary cancer, oncogenes, and antioncogenes. *Cancer Res* 1985; 45:1437-1443.
187. Korkolopoulou P, Christodoulou P, Papanikolaou A. Proliferating cell nuclear antigen and nucleolar organizer regions in CNS tumors: correlation with histological type and tumor grade. A comparative study of 82 cases on paraffin sections. *Am J Surg Pathol* 1993; 17:912-919.
188. Kornblith PL. Role of tissue culture in prediction of malignancy. *Clin Neurosurg* 1978; 25:346-376.
189. Kornblum JA, Bay JW, Gupta MK. Steroid receptors in human brain and spinal cord tumors. *Neurosurgery* 1988; 23:185-188
190. Kostron H, Daxenbichler G, Maier H. Steroidrezeptoren und atypische histologie als prognostische parameter bei meningiomen. *Wien Klin Wochenschr* 1990; 102:525-528.
191. Kram N, Nessim S, Geller SA. A study of colonic adenocarcinoma, with comparison of histopathology, DNA flow cytometric data, and number of nucleolar organizer regions (NORs). *Mod Pathol* 1989; 2:468-472.
192. Kruskal KH, Wallis WA. Use of ranks in one-criterion variance analysis. *J Am Stat Assoc* 1952; 47:583-621.
193. Kubota T, Hirano A, Yamamoto S. The fine structure of hyaline inclusions in meningioma. *J Neuropathol Exp Neurol* 1982; 41:81-86.