



ABRIR RESULTADOS

DISCUSSION

Actualmente las clasificaciones tumorales en general, y en particular las del SNC, se basan en el reconocimiento de la naturaleza de la célula en la que se produce la transformación neoplásica; y dentro de ellas, se establecen subgrupos tumorales con arreglo a criterios pronósticos, denominándose estos grupos con el término de «grados» (Tabla 1). De manera que las clasificaciones adquieren una gran relevancia pronóstica.

Su interés se fundamenta en la implicación clinicoterapéutica que adquiere el establecimiento del «grado» tumoral, pues éste guarda relación con la agresividad tumoral,^{67,298,340} y la respuesta del tejido tumoral al tratamiento.^{201,273,342} Estos parámetros, junto con la tolerancia de los pacientes a dicho tratamiento,^{137,284} van a marcar cuál va a ser el comportamiento tumoral y la correspondiente evolución de estos pacientes.

La incorporación del Glioblastoma en el grupo de Tumores Astrocíticos ha planteado a lo largo de todos estos años problemas de diagnóstico diferencial con el Astrocitoma Anaplásico, pues ambos tumores son de naturaleza astrocítica y muestran características anaplásicas. Su distinción no se encuentra bien definida, pues es discrepante la aplicación de los criterios histológicos (Tabla 2), y subjetiva la identificación y valoración de los mismos.^{64,298,308}

Además, en el establecimiento de estos grados tumorales (que conservan nombre propio en la clasificación actual de la OMS¹⁸²) no se aplican criterios intrínsecos a la célula neoplásica, como son su actividad proliferativa y nivel de diferenciación celular,⁶⁷ sino criterios indirectos empíricos, como la angiogénesis y necrosis, que son elementos secundarios y terciarios de la estructura histica tumoral.¹⁰⁰

Es por ello que nos planteamos redefinir al Astrocitoma Anaplásico y Glioblastoma (OMS¹⁸²) o Astrocitomas grados 3 y 4 (Daumas-Duport⁷⁷), con arreglo al criterio de graduación tumoral expresado por Robbins,⁶⁷ es decir según sus niveles de diferenciación y actividad proliferativa. Y para ello nos hemos basado en la valoración objetiva de marcadores celulares de diferenciación astrogial y actividad mitótica.

Uno de los primeros planteamientos que surgen al iniciar un trabajo es si el número de casos de que se dispone es suficiente y representativo; es decir, si constituye una muestra. Sin embargo, el presente estudio viene referido no a una «muestra», puesto que no se ha efectuado muestreo alguno, sino a una «serie» de casos que tuvieron lugar a lo largo de 12 años, en nuestro Centro Hospitalario.

La mayor parte de las series que se publican a cerca de Tumores Astrocíticos Malignos son de un tamaño y unas características similares al nuestro: Así, encontramos 72 casos en la serie de Wakimoto,³⁶⁰ 46 casos en la de Durmaz,⁹² 57 casos presenta Kreth;¹⁹⁰ Leon²⁰⁰ refiere una serie de 93 casos; otros 90 casos Onda,²⁴⁵ 42 casos observamos en la serie de Theunissen;³³³ 36 casos en la

de Montine;²²⁹ 54 casos en la de Danks;⁷⁴ o 65 casos en la serie de Lang;¹⁹⁹ entre otros.

Con motivo de Reuniones de Trabajo interhospitalarias y de grandes Centros, son referidas las series de mayor tamaño; aunque algunas de ellas recogen todos los grados tumorales (no sólo los de Alto Grado). Las que han alcanzado mayor relevancia son: la de Burger⁴¹ con 1.440 casos; Werner-Wasik³⁶⁴ con 786 casos; Nelson²³⁹ con 503 casos; Daumas-Duport⁷⁷ con 338 casos; Barker¹⁵ con 299 casos; Salzman²⁸⁴ con 289 casos; y Kim¹⁷⁸ con 251 casos.

La diferencia fundamental entre trabajar con una «muestra», o trabajar con una «serie», radica en que los resultados y conclusiones que se obtengan de esta última no son en rigor extrapolables o aplicables al conjunto de pacientes con Astrocitoma Maligno (Población universal afectada).

De ahí surge la siguiente pregunta: ¿Para qué sirve, entonces, realizar un trabajo sobre una serie de pacientes, que no constituye una muestra representativa de la población a estudio?; puesto que todo trabajo pretende trascender y ser de aplicación universal; y no sólo de ámbito restringido a un Centro concreto.

Es evidente que las conclusiones de una «serie», aunque sea ésta de gran tamaño, no son trascendentes; pero no por ello carecen de valor. Su importancia consiste en poder comparar los resultados que se publican en cada una de las series, y valorar el grado de concordancia entre ellas, con objeto de poder efectuar «agregaciones»; especialmente en aquellos estudios en los que resulta verdaderamente difícil obtener una muestra de personas afectadas por una determinada enfermedad, a nivel mundial.

En el trabajo que presentamos, hemos podido comparar los resultados pronósticos y descriptivos de las diversas variables incluidas en el estudio, con los de otras series. También hemos podido comparar, dentro de nuestra serie, la capacidad pronóstica del más difundido Sistema de Clasificación (OMS) y el que nosotros estudiamos. Sin embargo, el Sistema de Clasificación que proponemos es original, y por el momento no ha sido aplicado en otras series. Su comprobación por otros autores, con la consiguiente proyección terapéutica que podría llevar consigo, es el objetivo último que pretendemos alcanzar.

Para el presente trabajo, hemos incluido todos los casos definidos como Astrocitoma Maligno, por el método de la OMS de 1993,¹⁸² que viene a ser un sistema modificado de Daumas-Duport,⁷⁷ de 1988. Desde un punto de vista práctico, estos dos sistemas son muy similares, pues es infrecuente encontrar casos de Astrocitomas de grado 3 sin mitosis evidentes.

Sólo serán discrepantes entre ambos Sistemas aquellos tumores sin mitosis evidentes (Tabla 4); observándose en una proporción de un 8% en la Serie de Daumas-Duport,⁷⁷ y en un 21% en la de Kim.¹⁷⁸ En el sistema de la OMS se asume que los tumores que presentan fenómenos de necrosis

o de angiogénesis-MVP presentan además atipia y mitosis, aunque estas últimas sean de difícil visualización; en vez de realizar un sumatorio de criterios.

El Sistema que emplean La Sociedad Americana de Radioterapia Oncológica,^{308,364} La Sociedad Oncológica de Carolina del Norte,^{144,201,202} y la Universidad de San Francisco,^{15,78,259} son menos concordante con los dos anteriores, especialmente en la definición del grado III,³⁰⁸ puesto que están basados en el método de Burger,⁴¹ de 1985 («modificado de Ringertz»²⁶⁵); según el cual, la presencia de elevada celularidad con atipia es suficiente para considerarlos como Astrocitomas Anaplásicos; y de necrosis para Glioblastomas (Tabla 2).

El empleo de la «densidad celular» como criterio de graduación, también empleado por Schiffer,²⁹⁸ y por Zulch,³⁷⁷ (OMS, 1979), que recientemente ha sido de nuevo propuesto por Kiss,¹⁸¹ deja de tener aplicación en los posteriores (actuales) Sistemas, de Daumas-Duport⁷⁷ y de la OMS¹⁸² (OMS-2, 1993). Es preciso tener en cuenta todos estos hechos a la hora de comparar el tiempo de supervivencia de sus series con las de los demás Sistemas.

Así, en los estudios realizados por las Sociedades anteriormente citadas, encontramos supervivencias, para «su» Astrocitoma Anaplásico, del 46% de los pacientes a los cuatro años en la Serie de Levin y col.,²⁰¹ del 22% a los cinco años en la del grupo de Werner-Wasik;³⁶⁴ 45% de supervivencia a los cinco años en la Serie de Danks;⁷⁴ o una supervivencia media de 3,3 años en la Serie de Prados.²⁵⁹

Contrastan estos resultados con los de los Sistemas de la OMS y de Daumas-Duport, en los que sólo un 10% del conjunto de pacientes con Astrocitomas Malignos sobreviven a los dos años.^{4,156,203} En nuestra Serie de Astrocitomas Malignos sólo un 5% de los pacientes sobrevivieron a los dos años, y ninguno alcanzó los tres años de supervivencia.

Uno de los problemas que surgen tras la aplicación de los Sistemas OMS y Daumas-Duport (Clínica Mayo), consiste en que se aprecia muy poca diferencia en el tiempo de supervivencia entre los grados III y IV, lo que pone en duda su utilidad pronóstica; e incluso, algunos autores^{63,154,286,333,360} no encuentran diferencias significativas de supervivencia entre ambos grados.

En las principales Series encontramos supervivencias medias con cierta semejanza: Barker,¹⁵ refiere 10,9 y 12,5 meses para los Glioblastomas con y sin necrosis; Daumas-Duport⁷⁷ refiere 18 y 8 meses para los grados 3 y 4; o el de Salzman,²⁸⁴ en el que encontramos supervivencias medias de 22 y 14 meses respectivamente para los grados III y IV.

Otros Sistemas, como ya ha sido referido, mezclan los grados II y III de la OMS en su definición de Astrocitoma Anaplásico, y refieren supervivencias medias de 40,3 y 10,6 meses para ambos grados, como aparece en la serie de Werner-Wasik.³⁶⁴ La supervivencia que atribuyen al grado

III es similar a los 41 a 43 meses de supervivencia media para los tumores de grado II de la OMS.^{178,318}

En nuestra serie hemos observado una supervivencia media que guarda semejanza con la de los trabajos que también emplean el método de graduación de la OMS, con 12 y 8 meses para los grados III y IV respectivamente. En general, al igual que como hemos efectuado nosotros, la supervivencia viene referida desde el «diagnóstico tisular»,²⁸⁴ o no se especifica. Sólo hemos encontrado en el trabajo de Kim¹⁷⁸ que se especifique y diferencie entre supervivencia desde los primeros síntomas, con 22 y 12 meses para los grados 3 y 4; y supervivencia desde la intervención quirúrgica (diagnóstico tisular), con 14 y 8 meses respectivamente.

La inclusión de los tumores heterogéneos en grado, la hemos basado en los diversos trabajos que refieren un similar comportamiento de aquellos tumores con focos anaplásicos y de los que muestran anaplasia en toda su extensión.^{117,239,287,298} En este mismo sentido, y al igual que algunos investigadores,^{37,199,252,281} hemos clasificado dentro de los grados III y IV tanto los tumores que de inicio muestran las características histológicas requeridas para ello, como los que proceden de una progresiva desdiferenciación, hasta alcanzar anaplasia, al menos en alguna región tumoral.

El motivo de no incluir a aquellos pacientes a los que se les practicó toma biopsica se ha debido a varias razones: por un lado a su bajo número de casos, cuya comparación con el de los pacientes tratados mediante resección no sería concluyente; y por otra parte, a que no hemos considerado idóneo el material de biopsia para este estudio, pues en este tipo de tumores es común el fenómeno de «heterogeneidad», tanto de la actividad proliferativa,^{62,73} como del grado de diferenciación,^{188,299} por lo que las pequeñas tomas de material carecerían de representatividad; siendo observado por algunos autores²²⁸ que se produce una infravaloración del grado histológico tumoral en este tipo de muestras.

Todos los tumores fueron resecados quirúrgicamente, pero no nos ha sido posible precisar la amplitud de la resección. A pesar de ello, consideramos que su influencia en los resultados no es importante, pues aunque la resección pretende ser completa, sin embargo generalmente no puede serlo (Tabla 7) debido a la ubicación y tamaño del tumor,¹⁹⁰ o al carácter infiltrante del mismo,¹²⁶ con límites imprecisos (Graf. 6). Incluso, hay que tener también en cuenta, que la «resección total» no es tal en términos estrictos, pues se considera así a la extirpación de al menos un 90% de la masa tumoral;¹⁵ de manera que habitualmente las resecciones son subtotales, y la distinción entre resección total y subtotal es artificial y subjetiva, pudiendo permanecer tumor en el paciente en ambos casos.

La resección subtotal es la que se realiza con una mayor frecuencia, desde el 72%,²⁰⁰ hasta el 87% de las intervenciones.¹⁷⁸ Además su implicación pronóstica es discutida: así, el tipo de intervención, seguida de radioterapia, con la consiguiente cantidad de tumor no resecado, guarda implicación pronóstica, en relación inversa a la supervivencia, para algunos investigadores,^{5,74,200,318,370}

pero no para otros.^{58,190} Leon²⁰⁰ tampoco encuentra diferencia de supervivencia, según el tipo de resección, en los pacientes con tumores recidivantes.

A los pacientes en edad inferior a los 40 años se les aplicó tratamiento más agresivo, pues al igual que refieren diversos estudios existe una mejor respuesta y tolerancia a la quimioterapia con BCNU,^{137,261} y a las reintervenciones quirúrgicas,²⁸⁴ en esas edades. La mayor supervivencia observada en este grupo de pacientes podría ser debida, por lo tanto, a cualquiera de los dos factores: a la edad en sí, o al tratamiento recibido. Ahora bien, también es preciso considerar la influencia que otros factores pueden ejercer en el tiempo de supervivencia de los pacientes en esas edades, pues dicha variable pierde su significación estadística al entrar como covariable en el análisis multivariante (Tabla 25).

A pesar de emplear la misma «estrategia terapéutica» en todos los pacientes, es cierto que los tratamientos no pueden ser idénticos para los diferentes pacientes. Este es un problema insalvable, y que tal vez sea responsable en alguna pequeña medida, de las diferencias encontradas entre el número de casos observados correctamente clasificados y el esperado teóricamente. Esta «relativa uniformidad terapéutica» ha sido puesta de manifiesto por algunos autores.³⁶⁰

Hay algunos trabajos^{74,200,298,308} que excluyen a los pacientes menores de 18 años, refiriéndose sólo a pacientes adultos. Sin embargo nosotros hemos considerado más conveniente no excluir ningún valor de edad, pues los Astrocitomas Malignos pueden aparecer en cualquier edad, incluso de forma congénita.^{218,256} En el trabajo referencial de Daumas-Duport⁷⁷ puede observarse que también es recogido cualquier valor de edad, con rango de 1 a 78 años; e incluso podemos constatar estudios recientes sobre Astrocitomas Malignos en edades pediátricas, como el de Pollack²⁵⁸ o el de Ho.¹⁵³

Los valores descriptivos encontrados para la edad en nuestra serie de pacientes, son similares a los recogidos en otras series,^{15,41,178,190} con mínimas variaciones de uno o dos años; observando una edad media de 56 años; 53 y 57 años respectivamente para los grados III y IV de la OMS; valores que se mantiene tanto en hombres como en mujeres.

En la relación por sexo, hemos observado un ligero incremento del grupo de hombres, respecto a otros trabajos, con un 72% de afectación en hombres por un 28% en mujeres, en contraste con un 55% a un 63% de afectación en hombres según otras series.^{15,178,211,364}

De igual forma que en nuestros resultados, podemos apreciar que en el trabajo referencial de Daumas-Duport⁷⁷ el factor sexo aparece también con validez pronóstica. En el diagrama de dispersión de los casos por sexo (Graf. 14) llama la atención que en la zona de mayor supervivencia todos los casos son hombres, independientemente de la edad. Sin embargo ambas variables pierden su significación pronóstica al entrar como covariables, junto a los demás factores pronósticos, en el

análisis multivariante (Tabla 25).

Puede sorprender, comparativamente con otros trabajos, el estado prequirúrgico de nuestros paciente: En nuestra serie de pacientes, solamente el 35,5% se encontraban en un rango de Karnofsky de 80-100; mientras que en la gran mayoría de trabajos se refiere un mejor estado de los pacientes antes de la intervención; mostrando un rango superior a 70 en la Escala de Karnofsky el 52,1% de los pacientes,²¹¹ el 70% de los pacientes,³⁶⁴ el 81% de los pacientes,¹⁵ e incluso hasta el 88% de los pacientes,²⁰⁰ según las diferentes series referidas.

Este buen estado referido por los diversos autores puede ser debido, por un lado, como señala Leon,²⁰⁰ a que en algunas Instituciones se seleccionan los pacientes, para ser incluidos en los diferentes estudios y trials; y por otro lado, a que no se especifica si el rango va referido a la sintomatología con la que debuta, o al estado prequirúrgico previo a la intervención; pues sabido es que desde los síntomas de inicio hasta la intervención pueden sucederse entre 4-5 meses en los pacientes con tumores de grado IV,^{41,178} a 8 meses en los de grado III.¹⁷⁸

En este sentido podría entenderse mejor que el 22% de los pacientes en la serie de Barker¹⁵ fueran asintomáticos (Karnofsky prequirúrgico 100), o que el 67% de los pacientes se encontraran en un rango comprendido entre 90 y 100 en la de Leon.²⁰⁰ En el 19% de los casos no nos ha sido posible precisar dicho valor, «previo a la intervención»; que es el momento en el que consideramos que debería efectuarse dicha valoración, pues es un tiempo objetivo y concordante con la valoración histopatológica tumoral.

Al igual que otros autores,^{58,237} no hemos encontrado valor pronóstico en el estado prequirúrgico del paciente, aunque sí se observa una tendencia decreciente del tiempo de supervivencia en relación directa con el descenso del Karnofsky (Tabla 14); sin embargo son más los autores que sí lo refieren;^{92,171,200,211,360} si bien todos estos últimos trabajos van referidos a Astrocitomas de «todos» los Grados; pudiéndose constatar mayor porcentaje de pacientes con rango superior a 70 en Astrocitomas de Bajo Grado.²¹¹

El tamaño y la localización tumoral son otros de los controvertidos y discrepantes factores. En el presente estudio, al igual que otros autores,^{58,190} no hemos encontrado diferencias significativas de supervivencia entre pacientes con tumores de localización profunda y superficial; contrariamente a los resultados referidos por Wakimoto.³⁶⁰

En diversos estudios,^{116,364} es referido el tamaño tumoral superior a 5cm., aproximadamente entre el 25% y el 60% de los casos. No encontrando Kreth¹⁹⁰ correlación entre el tamaño y la invasión de la línea media. Algunos autores no encuentran valor pronóstico en el tamaño tumoral de los Gliomas Malignos,^{190,298} contrariamente a los resultados referidos por otros.⁹² Los resultados de nuestra serie, sobre un total de tumores superficiales en estadios T1 o T2, son concordantes con

los referidos, encontrado un 39% de tumores mayores de 5cm.; sin que hayamos observado diferencia de supervivencia entre ambos grupos.

Tampoco hemos apreciado diferencia de supervivencia significativa entre la afectación de uno o varios lóbulos, contrariamente a lo referido por Kim.¹⁷⁸ Todos los lóbulos han mostrado afectación tumoral; pudiéndose comprobar un ligero predominio del lóbulo temporal, de manera similar a lo recogido en otras series.^{77,190,211} No hemos encontrado diferencias de supervivencia entre la afectación de los diferentes lóbulos cerebrales, de igual forma que como se muestra también en algunos trabajos,^{74,178} y contrariamente a lo referido en otros.^{92,211,363}

En los diversos estudios sobre tumores multicéntricos,^{16,197,281} éstos son referidos aproximadamente entre el 5% y 10% del total de Tumores Astrocíticos evaluados; pudiendo estar comprendido cualquier grado.¹⁹⁷ Estos datos son similares a los observados en nuestra serie: con un 7,5% de casos con multifocalidad; correspondiendo a cualquier estadio y estando comprendidos todos ellos en el grado IV de la OMS, o en los grados III (el 33,3%) y IV (66,6%) del nuevo Sistema GFAP/Ki-67 objeto del presente estudio. Las formas tumorales multifocales (6 casos de los 81 estudiados) mostraron menor supervivencia que el resto, pero sin alcanzar dicha diferencia significación estadística.

En relación a los parámetros histológicos incluidos en el estudio, la presencia de pequeña celularidad isomorfa la hemos encontrado asociada a un mayor grado de desdiferenciación/indiferenciación (relacionada ésta con la pérdida del contenido astrocitario de gliofilamentos citoesqueléticos (GFAP)^{100,215,354,373}). Sin embargo su presencia ha sido identificada paradójicamente en ambos grados III y IV de la OMS, tanto en el presente estudio como en el realizado por Martos.²¹⁵ Al igual que refiere Burger⁴¹ tampoco hemos observado diferencia pronóstica entre los tumores con presencia de pequeña celularidad isomorfa y el resto de los tumores, en el contexto de Gliomas Malignos.

Su presencia en los Astrocitomas Malignos se corresponde con ambas ideas contrapuestas sobre su origen:^{37,275} como un tumor de células stem (indiferenciado embrionario o PNET), cuya malignidad histológica es consecuencia de alteraciones madurativas, y que pueden mostrar un cierto grado de diferenciación astrocítica; o como resultado de la progresiva desdiferenciación astrocítica hasta su grado máximo. En este sentido, Rubinstein²⁷⁵ afirma que «puede ser virtualmente imposible diferenciar si las pequeñas células isomorfas son anaplásicas o embrionarias».

Desde Broders²⁷ en 1926, el grado de desdiferenciación celular tumoral es el parámetro fundamental para establecer grados de malignidad en su comportamiento. En los tumores de origen astrocítico, Kernohan^{176,328} estableció grados de malignidad, agrupando a los tumores en Astrocitomas Bien Diferenciados y Astrocitomas con Anaplasia; considerando aparte al Glioblastoma, pues se pensaba que era de origen embrionario.

El descubrimiento por Eng⁹⁶ de la proteína gliofibrilar ácida (GFAP), y su posterior demostración en los astrocitos,¹⁸ hizo que se desarrollara y extendiera su utilización en parafina; no sólo con fines diagnósticos sino también pronósticos, ya que su concentración citoplasmática se encuentra disminuida en las células anaplásicas.^{215,354,373} Sin embargo, estas expectativas de ámbito pronóstico se fueron apagando, pues según señala Kurpad:¹⁹⁶ «su aplicación pronóstica no se ha generalizado porque la valoración de su expresión es de difícil interpretación».

Esta dificultad se debe a diversos factores: A problemas en su cuantificación,^{22,184} pues la GFAP es citoplasmática, identificándose a través de sus intrincadas prolongaciones, que en tumores de elevada densidad celular da como resultado una gran complejidad de marcaje (Fig. 6B). A la subjetiva distinción de los astrocitos «atrapados» con los verdaderamente tumorales^{4,101} (Fig. 11B). Y a la existencia de heterogeneidad regional tumoral en la expresión de la GFAP^{188,299} (Fig. 9). Además, aunque su expresión disminuye conforme aumenta el grado de desdiferenciación (anaplasia), algunos Astrocitomas de grado IV muestran una marcada expresión de GFAP^{91,188,348} (Fig. 8).

Nosotros nos hemos encontrado también inicialmente con todas estas dificultades de interpretación de la expresión de GFAP. Por este motivo no nos ha sido posible desarrollar un método de cuantificación mediante el empleo de sistemas de análisis de imagen. Sin embargo, a lo largo de la serie hemos podido observar básicamente tres «Patrones de Expresión»: Los tumores marcadamente positivos, de manera amplia y difusa (Fig. 8); los tumores con expresión heterogénea zonal (Fig. 9); y los de escasa positividad (Fig. 10), encontrándose ésta débilmente en algunas esporádicas células con atipia nuclear, en mayor cantidad en células atípicas gigantes, y también en astrocitos atrapados y reactivos.

En nuestra serie hemos podido constatar los hechos anteriormente citados: Un 42% de los tumores mostró heterogeneidad en la expresión de GFAP. Y en los dos grupos tumorales definidos con arreglo a los criterios de la OMS, podemos encontrar cualquier tipo de patrón de expresión de GFAP; si bien se observa un mayor número de casos con patrón GFAP+++ en los tumores de grado III respecto a los de grado IV, con un 55,6% por un 28,6% de casos respectivamente. Y por el contrario, hemos encontrado un 16,7% de tumores de grado III con GFAP+ por un 25,4% de tumores de grado IV con GFAP+.

Este solapamiento en la expresión de GFAP entre los diferentes grados tumorales, definidos de acuerdo a los criterios de la OMS, contrasta con su valor predictivo pronóstico; mostrando la expresión de GFAP+, GFAP++, y GFAP+++ supervivencias medias de 6, 9, y 13 meses respectivamente; diferencias que muestran significación estadística (Tabla 14). Ello nos conduce a replantear si los criterios de la OMS (necrosis y/o angiogénesis-MVP) son adecuados para discriminar los grados III y IV.

La actividad proliferativa tumoral es otro de los parámetros al que se le atribuye validez pronóstica,⁶⁷ mostrando una alta correlación con el curso clínico, cualquiera que sea su estirpe: carcinoma,²³ carcinoma de células transicionales,⁴⁶ sarcoma,¹⁰⁴ linfoma,¹⁴² etc. En los astrocitomas ocurre lo mismo, pues ya en 1949 Kernohan¹⁷⁶ y Svien⁹³ señalaron la utilidad de la identificación de mitosis en la graduación pronóstica de los glioblastomas; y actualmente la OMS¹⁸² emplea su identificación como criterio diferenciador de los Tumores Astrocíticos de Bajo y Alto grado de malignidad.

La identificación de figuras de mitosis en los cortes histológicos convencionales entraña un cierto grado de dificultad,^{64,77} por lo que se han desarrollado marcadores de proliferación celular para facilitar dicha tarea. Sin embargo, el establecimiento del índice de proliferación celular, mediante la aplicación de dichos marcadores, depende del antígeno de proliferación detectado,^{208,220,333} del anticuerpo que se emplee,²⁴⁵ y del método de conteo^{229,305} (Tabla 37), lo que plantea dificultad y confusión a la hora de comparar resultados entre diferentes Centros.

De manera que el índice de proliferación celular tumoral referido por los diversos autores es muy variable; e incluso en lo referente a la valoración de la proteína Ki-67. A ello se une la discrepancia existente en la aplicación de los criterios histológicos en la graduación tumoral según los diferentes Sistemas de Clasificación Pronóstica (Tabla 2), lo que contribuye a aumentar las diferencias observadas en el índice proliferativo en cada grado tumoral.

Sin embargo, a pesar de dicha variabilidad de valores (Tabla 37), casi todos los investigadores coinciden en señalar que el Ki-67IP se correlaciona de manera importante con la supervivencia de los pacientes afectados por tumores de naturaleza astrocítica;^{93,180,181,229,258,285,360} siendo muy pocos los autores que ponen en duda dicha correlación.^{255,376} En nuestros pacientes, el índice de Ki-67 se mostró como el principal factor pronóstico de su supervivencia (Tabla 26); mostrando con ella correlación inversa (Tabla 15).

Resulta más controvertida, sin embargo, la correlación entre el Ki-67IP y el grado histológico, especialmente en los Astrocitomas de Alto Grado; careciendo de la misma en algunos estudios.^{40,83,168,229,251,255} En estos estudios son referidos importantes solapamientos en el rango de su expresión (Tabla 37); motivo por el que algunos autores no han considerado la valoración del índice de Ki-67 de utilidad en la graduación tumoral.^{40,229,255}

En trabajos más recientes,^{180,181,258,376} y en el que presentamos, sí hemos encontrado correlación entre el grado histológico y el índice proliferativo tumoral (a través de su expresión de Ki-67) (Tabla 34). Es cierto que también nosotros hemos encontrado un importante solapamiento en el rango de Ki-67IP de los tumores de grado III y IV de la OMS, con rangos de 4-33 y 3-47 respectivamente. Pero es preciso tener en cuenta que encontramos un mayor número de casos con alto índice proliferativo en el grado IV que en el III ($p=0,014$; test U Mann Whitney), cuyos valores me-

TABLA 37: EXPRESION DE Ki-67 EN ASTROCITOMAS MALIGNOS

REFERENCIA	SISTEMA	METODO	Ag - Ac	GRADO	MEDIA	MEDIANA	RANGO	CUT-OFF
SCHRODER ³⁰³	OMS	1000 cel.	Ki67 - Ki67	III	--	9,7	4,0 - 15,5	--
				IV	--	13,9	5,8 - 39,5	--
LOUIS ²⁰⁸	Daumas-Duport	1000 cel.	Ki67 - Ki67	III	4,5	--	2,0 - 10,0	--
				IV	21,4	--	17,0 - 26,0	--
ZUBER ²⁷⁶	Kernohan	5 campos	Ki67 - Ki67	III	3,5	--	1,7 - 7,4	--
				IV	11,1	--	1,7 - 32,2	--
ONDA ²⁴⁵	UCSF	1000 cel.	Ki67 - Ki67	III	7,0	--	--	--
				IV	13,8	--	--	--
ONDA ²⁴⁵	UCSF	1000 cel.	Ki67 - MIB1	III	7,3	--	--	--
				IV	23,9	--	--	--
WAKIMOTO ³⁶⁰	OMS	3 campos (500cel)	Ki67 - MIB1	III	18,4	--	--	--
				IV	31,6	--	--	--
MONTINE ²²⁹	Burger / Ringertz	1000 cel.	Ki67 - Ki67	III	14,3	11,2	3,9 - 30,6	7,5%
				IV	18,9	18,1	5,7 - 42,7	
KARAMITOPOULOU ¹⁴⁸	OMS	5000 cel. (10-12 camp)	Ki67 - MIB1	III	12,8	11,2	4,3 - 24,3	--
				IV	14,5	13,1	5,6 - 23,2	--
KIRKEGAARD ¹⁸⁰	Daumas-Duport	15 campos (PPNA)	Ki67 - MIB1	III	14,3	--	0,02 - 37,6	12%
				IV	18,7	--	1,14 - 35,9	
RAUTIAINEN ²⁶²	OMS	800 cel.	Ki67 - MIB1	III	19,7	17,5	0,5 - 43,1	--
				IV	29,7	28,9	10,3 - 47,2	
KISS ¹⁸¹	Burger / OMS	1000 cel. - 2200 cel.	Ki67 - MIB1	III	--	10	--	8%
				IV	--	11	--	
POLLACK ²⁵⁴ (niños)	OMS	5 - 10 campos (2000 cel.)	Ki67 - MIB1	III	11,9	--	1,8 - 31,5	12%
				IV	27,3	--	3,8 - 62,0	
SALLINEN ²⁸⁵	OMS	20 campos (PPNA)	Ki67 - MIB1	III	16,6	12	--	15,3%
				IV	--	23	--	
TESIS	OMS	5 campos (PPNA)	Ki67 - MIB1	III	13	10	4 - 33	16%
				IV	19,7	19	3 - 47	



dianos son 19 y 10 respectivamente; siendo el valor mediano el que a nuestro juicio da mejor idea de la actividad proliferativa tumoral, por no mostrar ésta una distribución normal en cada grado. El solapamiento observado en el índice proliferativo entre grados vecinos puede ser indicativo, como señala Schröder,³⁰⁵ «de una real transición en el potencial proliferativo tumoral».

Es difícil identificar un valor de Ki-67IP («cutoff»^{180,181} o «cutpoint»²²⁹) que nos diferencie dos grupos (grados) pronósticos, puesto que al no estar bien definidos los grados III y IV (depende del Sistema que se aplique; y su «nueva» definición es precisamente el objeto de este trabajo), no nos es posible aplicar el teorema de Bayes³²⁰ para su identificación.

Serán valores discriminantes (cutoff) del Ki-67IP todos aquellos que diferencien dos grupos de pacientes cuyas supervivencias muestren diferencia con significación estadística. Y de entre todos ellos, el valor más bajo de expresión de Ki-67IP que encontremos con significación pronóstica será el más sensible, pero poco específico; y de igual manera, el valor más alto de expresión con significación pronóstica será el más específico, pero menos sensible en la graduación creciente tumoral.

Además, es preciso tener en cuenta que la actividad proliferativa tumoral viene determinada por la fracción de crecimiento (número de células dentro del ciclo) y por el tiempo que tarda en completarse el ciclo celular.³⁷² La expresión de Ki-67, sólo nos permite valorar el primer factor.²⁸ De manera que podría suceder, en algunos casos, que tumores con un gran número de células dentro del ciclo (elevado Ki-67IP), pero con un periodo de tiempo largo en completar dicho ciclo, su actividad proliferativa real fuera paradójicamente lenta; y viceversa.

Para dar respuesta a estos dos problemas planteados, hemos asociado a la variable Ki-67IP una segunda variable, que ha sido la expresión de GFAP. Ambas variables muestran entre sí correlación inversa (Tabla 20), como también ha sido referido por Kunz,¹⁹⁵ y muestran significación pronóstica independiente (Tabla 25). Esta asociación nos permite clasificar más adecuadamente los casos estudiados desde el punto de vista pronóstico.

El «cutpoint» de Ki-67IP ha sido obtenido de diferente manera según autores: Kirkegaard¹⁸⁰ utiliza como tal el valor mediano del porcentaje del área nuclear positiva («PPNA»); siendo éste del 12%. Montine²²⁹ utiliza el valor de mayor significación estadística de Ki-67IP encontrado; siendo éste del 7,5%. Y Sallinen²⁸⁵ realiza un análisis ROC de especificidad y sensibilidad de acuerdo con supervivencias mayores o menores de 2 años, refiriendo como tal el valor 15,3% de PPNA. En nuestra serie, el valor mediano de Ki-67IP, determinado por «el porcentaje del área nuclear positiva (PPNA)», ha sido también el que alcanzó mayor significación estadística, de entre todos los valores encontrados de Ki-67IP que permitían establecer dos grupos pronósticos; siendo su valor el 16%.

El menor «cutpoint» encontrado por Kirkegaard, respecto al nuestro (12% por 16%), puede ser debido, no a la menor cantidad de tejido tumoral analizado por nosotros (0,9 mm² por 2,7 mm²), pues este mismo autor encuentra comparables resultados en el análisis de cantidades variables de tejido (0,9 mm², 1,8 mm² y 2,7 mm²),¹⁸⁰ sino a que en su estudio, el material de la mayoría de los casos procedía de biopsia esterotáxica, con la consiguiente posibilidad de ser infravalorado dicho índice, pues es bien conocida, como se refiere en diversos estudios,^{40,62,73,305} la existencia de heterogeneidad zonal en la actividad proliferativa tumoral.

En el estudio de Montine, el menor valor del «cutpoint» respecto al nuestro (7,5% por 16%), podría tener relación con el tipo de anticuerpo empleado; pues, como señala Onda,²⁴⁵ la expresión de Ki-67 detectada mediante el empleo del anticuerpo MIB1 es significativamente superior a su expresión detectada mediante el empleo del anticuerpo Ki-67.

Los resultados observados en el presente trabajo, son consistentes con la fisiopatología tumoral en su proceso de oncogénesis; según la cual, unido al proceso de pérdida de diferenciación celular se produciría un incremento de la actividad proliferativa tumoral.¹⁰⁰ Este hecho fué puesto de manifiesto por Kunz,¹⁹⁵ al encontrar relación inversa entre la expresión de GFAP y el índice proliferativo, determinado mediante autorradiografía de la fase S del ciclo celular. En nuestra serie tumoral también podemos comprobar la existencia de correlación inversa ($\rho = -0,55$; $p = 0,000$) entre la actividad proliferativa (Ki-67IP) y el grado de diferenciación astrocítica (expresión de GFAP) (Tabla 20).

El incremento en la actividad proliferativa, da como resultado el aumento de la densidad celular tumoral, con la consiguiente alteración en su demanda metabólica,^{39,108,109} y la posterior aparición de necrosis. La aparición de necrosis es, por lo tanto, generalmente un fenómeno tardío, posterior al inicio de la dediferenciación; de manera que aquellos tumores con elevado índice proliferativo que sean resecados antes de que aparezca la necrosis, carecerán de la misma en el material quirúrgico, pudiendo ser infravalorado su grado de malignidad.

De similar manera, puede ser sobrevalorado, en aquellos tumores que sin mostrar excesiva actividad proliferativa ni máxima dediferenciación, muestren actividad angiogénica o alguna pequeña necrosis puntual de difícil interpretación.

Estos hechos podrían ser los responsables de la cada vez más controvertida aplicación de la necrosis y angiogénesis-MVP como criterios de graduación pronóstica, en el contexto de Astrocitomas Malignos. Pues contrastan los estudios que encuentran validez pronóstica en la aplicación de estos criterios,^{15,77,178,284} con los que no refieren diferencias de supervivencia significativas entre los grupos definidos por los mencionados criterios.^{63,83,154,240,286}

La angiogénesis tumoral muy frecuentemente coexiste con la presencia de necrosis (Fig.

3B). Nelson²³⁹ refiere que la mayoría de los tumores con necrosis muestran también proliferación microvascular (MVP); y no encuentra MVP en tumores carentes de necrosis. Nosotros también hemos podido comprobar que un alto porcentaje de tumores con necrosis se acompañan de angiogénesis-MVP; pero a diferencia de Nelson hemos observado un 10% de tumores con MVP sin necrosis asociada; similar a lo referido en otras series, como la de Kim¹⁷⁸ con un 7,7%, el 20% en la de Daumas-Duport,⁷⁷ el 34% refiere Revesz,²⁶⁴ o el 12% Barker¹⁵ en resecciones subtotales.

Esta asociación paradójica puede ser debida, como señalan diversos autores,^{131,367} a que la neovascularización resulte insuficiente por ineficaz o por tardía. En este sentido, Vitolo³⁵⁵ sugiere que existen diversos pasos de maduración en la proliferación endotelial, y que la mayoría de estas proliferaciones pueden ser inmunohistológicamente consideradas como estructuras vasculares incompletas. En el presente trabajo hemos podido constatar que no sólo aparecen asociadas con frecuencia, sino que guardan entre sí una correlación directa moderada (Tabla 24).

No en todos los Gliomas la presencia de necrosis acarrea un peor pronóstico; pues, como señala Alvord,⁴ «la necrosis en los oligodendrogliomas no necesariamente implica un mal pronóstico». Este autor sugiere que no es infrecuente que Tumores Mixtos Gliales con anaplasia y necrosis sean clasificadas como Glioblastoma, con una larga supervivencia, dada la dificultad de distinguir astrocitos «atrapados» de astrocitos tumorales.^{4,101}

En el presente estudio, sí hemos encontrado valor pronóstico en los criterios de presencia de necrosis y/o proliferación microvascular, pero con un elevado solapamiento en el tiempo de supervivencia entre los grados histológicos por ellos definidos (sólo un 59% de casos adecuadamente clasificados). Con el sistema que proponemos (Ki-67/GFAP) logramos disminuir en gran medida tal solapamiento (con un 77% de casos adecuadamente clasificados) (Tabla 33).

El Sistema de «graduación tumoral» que proponemos para los Astrocitomas Malignos (Astrocitomas cuya actividad proliferativa es tal que pueden ser identificadas mitosis a la simple observación microscópica, con técnica convencional de hematoxilina-eosina),¹⁸² es el resultado de un método construido sobre la base de la diferenciación y proliferación celular tumorales, y no sobre fenómenos añadidos (estructuras secundarias y terciarias) de angiogénesis y necrosis. Los resultados obtenidos tras la aplicación de ambos Sistemas ponen de manifiesto una mayor capacidad discriminante con el Sistema «Ki-67IP/GFAP», así como un mayor número de casos correctamente clasificados, desde el punto de vista pronóstico, con el «nuevo» Sistema.

El mejor pronóstico observado en edades jóvenes puede ser en parte atribuible a una mejor tolerancia en esas edades a las reintervenciones y quimioterapia (BCNU); sin embargo tanto la expresión de GFAP como de Ki-67IP han mantenido su significación pronóstica en cualquier intervalo de edad, incluido en inferior a 40 años (Tabla 18). Y aunque no hemos encontrado diferencias significativas en la actividad proliferativa tumoral entre pacientes con edad superior e inferior a 40

años (Tabla 17), si hemos apreciado una discreta correlación entre la edad y el índice proliferativo (de Ki-67) (Tabla 16).

De manera que la cuantificación de la expresión tumoral de las proteínas Ki-67 y GFAP nos aporta una mejor distribución pronóstica de los pacientes (Graf. 18 y 19), que pudiera guardar relación con la diferente respuesta tisular al tratamiento observada, en beneficio de aquellos pacientes con tumores astrocíticos de baja-moderada actividad proliferativa y buena diferenciación, independientemente de su edad y de la aparición o no de angiogénesis y necrosis.

La necrosis como criterio de graduación pronóstica en los Astrocitomas, surgió con fuerza a partir del trabajo referencial de Nelson,²³⁹ en el que se justifica por la problemática aplicación de la anaplasia, debido a la heterogeneidad histológica de estos tumores y a la subjetiva valoración de la misma. Esta idea fué nuevamente ratificada e impulsada en otro gran trabajo referencial, el de Burger.⁴¹ Si bien en ambos trabajos, la angiogénesis «glomeruloide» (MVP) adquiere una consideración secundaria y no decisiva (Tabla 2).

Es más tarde Daumas-Duport⁷⁷ quien equipara la MVP a la necrosis en valor pronóstico de graduación tumoral; «eliminando» al mismo tiempo el nombre propio de los grados. Sin embargo es posteriormente la OMS¹⁸² quien recupera el nombre propio asociado a los grados (Tablas 1B y 3), desde la inclusión del Glioblastoma en el grupo de Tumores Astrocíticos.

Por lo tanto, a la pérdida del protagonismo del «nivel de anaplasia», en la graduación tumoral, en favor de la identificación de angiogénesis y necrosis, se suma la confusión que crea el denominar Glioblastoma al grado IV de malignidad, y Astrocitoma Anaplásico al grado III, según hayan aparecido o no los fenómenos anteriormente citados. La confusión es mayor al observar, según el sistema de clasificación utilizado, cómo algunos tumores con necrosis son tipificados de grado III;^{77,178,298} y cómo otros sin necrosis ni mitosis evidentes son también tipificados en el grado III.^{201,259,364} Es decir, que existe una clara falta de unificación en la aplicación de criterios histológicos para tipificar subgrupos pronósticos (Tabla 2).

A lo largo del trabajo hemos mantenido la idea de que la graduación tumoral debe basarse sobre la valoración del nivel de anaplasia (desdiferenciación) y actividad proliferativa.⁶⁷ Aunque, en el establecimiento del pronóstico tumoral, se valoren además del grado otros factores, como la extensión (que en los Astrocitomas Malignos adquiere menor relevancia),^{190,298} la edad,^{36,178,211} el nivel del metabolismo de la glucosa,³⁶⁸ la formación angiogénica,^{41,77} o la aparición de necrosis coagulativa^{41,239} entre otros, todos estos factores pronósticos deben ser considerados aparte/además del «grado histológico».

Por otra parte, el nombre propio de los tumores viene asociado a su origen celular o tisular, que sirve para su clasificación. De ahí que inicialmente el Glioblastoma se clasificara como em-

brionario, y el Astrocitoma Anaplásico como astrocítico (Tabla 1A). La demostración de la naturaleza astrocítica del Glioblastoma ha sido interpretada como que se origina por desdiferenciación del astrocito maduro transformado; siendo incorporado en el grupo de Tumores Astrocíticos (Tabla 1B). Escalona,¹⁰² partiendo del cultivo de una población celular de glioblastoma encontró que a los pocos días se podían observar células bipolares emigrando hacia la periferia, y días después células multipolares pleomórficas; siendo este patrón de crecimiento similar al observado en el cultivo de células de Astrocitoma bien diferenciado (de Bajo Grado).

Sin embargo, Chiu y Goldman⁵³ han demostrado también mediante cultivos celulares, que las células embrionarias neuroectodérmicas de la zona subventricular, expresoras del antígeno GD3, son capaces de diferenciarse en sentido astrocítico, adquiriendo expresión de GFAP. Por lo tanto, la «naturaleza astrocítica» parece que pueda hacer referencia no sólo a la célula madura (astrocito) sino también a su línea precursora.

En este mismo sentido otros autores¹⁸² han referido la presencia de células polares (espongioblásticas) durante la progresión de algunos Meduloblastomas y también de Oligodendrogliomas. Y Rubinstein²⁷⁹ hace incapié en la posibilidad de ambos caminos de transformación, tomando como ejemplo el Meduloblastoma, que puede mostrar diferenciación astrocítica, pero también el Astrocitoma cerebelar bien diferenciado puede recidivar con un rápido proceso de desdiferenciación a Meduloblastoma; siendo ambas formas anaplásicas morfológicamente similares.

Por todo ello pensamos que no se puede descartar la posibilidad de tumores anaplásicos de naturaleza astrocítica que pudieran tener su origen bien en las células embrionarias precursoras, con un posterior cierto grado de diferenciación astrocítica y de maduración (aunque anómala), o bien en la célula madura (final) transformada. Esta idea que planteamos puede corresponderse con el antiguo concepto de Sherer²⁹⁶ de Glioblastomas Primarios y Secundarios; y que actualmente ha vuelto a adquirir gran interés tras el descubrimiento de la existencia de diferentes caminos de transformación neoplásica,^{199,356} según sean de novo (primarios) o por transformación progresiva de las formas bien diferenciadas (secundarios); observándose en ellos diferentes acúmulos de alteraciones genéticas (Graf. 7).

Este punto de vista se corresponde también con los estudios ultraestructurales, en los que se ha observado que unos Glioblastomas son todavía capaces de elaborar gliofilamentos (GFAP) y otros no,⁹⁹ y con la inmunohistoquímica, en la que unos Glioblastomas poseen alta positividad para GFAP y otros una positividad muy escasa (Fig. 8-11).

Ello nos conduce al planteamiento de una nueva hipótesis: Si dentro de «nuestro» grado IV de máxima anaplasia, aquellos tumores observados que aún conservaban manifiesta expresión de GFAP (patrones +++/++) son concordantes con los Glioblastomas Secundarios; y si aquellos con

escasa expresión (GFAP+) corresponderían a los Glioblastomas Primarios, con nivel máximo de anaplasia desde su inicio.

En este caso podríamos hablar de:

- Astrocitoma Anaplásico: con buena expresión de GFAP (+++/++), y grados III y IV de malignidad (este último equivalente a Glioblastoma Secundario) según la intensidad de su actividad proliferativa; pudiendo ser identificada en ambos grados la angiogénesis y necrosis.

- Glioblastoma (equivalente a Glioblastoma Primario o de novo): con escasa expresión de GFAP (+), y grado IV de malignidad, generalmente con una elevada actividad proliferativa; que hipotéticamente podría tener su origen o bien en una célula embrionaria precursora GD3+ (Glioblastoma), o bien en el astrocito maduro transformado por un mecanismo de dediferenciación rápido (en este segundo supuesto pensamos que no debería denominarse Glioblastoma); pudiendo aparecer en ellos también los fenómenos de angiogénesis y necrosis.

Esperamos poder dar continuidad al presente estudio realizado, para verificar los supuestos hipotéticos que nuevamente han ido surgiendo y que acabamos de expresar.

CONCLUSIONES

1. Los Astrocitomas Malignos presentan diferentes patrones de expresión de la proteína gliofibrilar ácida: homogéneo difuso (GFAP+++), heterogéneo zonal (GFAP++), y escaso (GFAP+).
2. En estos tumores, la actividad proliferativa (Ki-67IP) muestra heterogeneidad regional, variando entre moderada e intensa en los focos de mayor actividad.
3. La expresión de las proteínas tumorales Ki-67 y GFAP muestran entre sí correlación inversa.
4. El tiempo de supervivencia, de los pacientes con Astrocitoma Maligno, se correlaciona de manera directa con el grado de diferenciación celular (expresión de GFAP), e inversa con la actividad proliferativa tumoral (Ki-67IP).
5. Las variables índice proliferativo de Ki-67 y expresión de GFAP muestran significación pronóstica independiente; significación que se mantiene en cualquier grupo de edad y sexo.
6. En los casos con actividad proliferativa tumoral elevada (superior o igual al 16% de la celularidad tumoral, correspondiente al valor mediano de Ki-67IP de la serie), se observa cualquier patrón de expresión de GFAP, careciendo ésta de valor pronóstico.
7. En los casos con actividad proliferativa tumoral inferior al valor mediano (16%) de Ki-67IP, se observa casi siempre expresión de GFAP conservada, patrones homogéneo difuso («+++») y heterogéneo («++») de similar valor pronóstico, y significativamente mejor que en los pocos casos de mínima expresión («+»).
8. La expresión de Ki-67 y de GFAP nos permite tipificar subgrupos pronósticos sobre la base de la valoración de la actividad proliferativa tumoral y nivel de diferenciación celular, con mayor capacidad discriminante que las basadas en la identificación de angiogénesis y necrosis tumoral.
9. Este nuevo Sistema de Graduación Tumoral define el Grado III por la conservación (homogénea o heterogénea) de la expresión de GFAP asociada a una moderada actividad proliferativa (inferior al 16%); y el Grado IV por la elevada actividad proliferativa cualquiera que sea la expresión de GFAP y los pocos casos de actividad proliferativa moderada con escasa expresión de GFAP.
10. Los Sistemas de Graduación Tumoral basados en la desdiferenciación / proliferación, y en la angiogénesis / necrosis muestran entre sí una baja concordancia.

ICONOGRAFIA

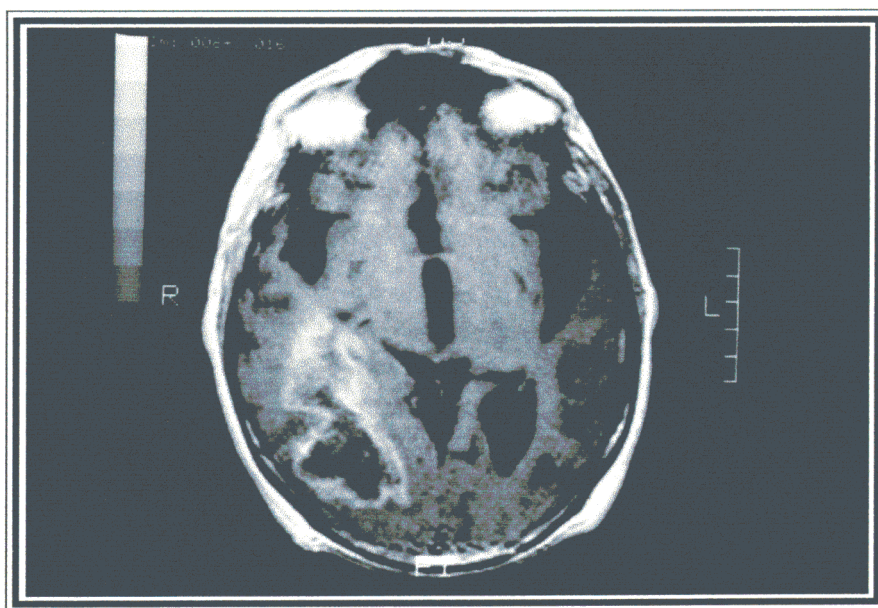


Figura 1

FIGURA 1

Figura 1: IMAGEN RADIOLOGICA DE LOS ASTROCITOMAS MALIGNOS

Tumoración de localización parieto-témporo-occipital de tamaño superior a 5 cms., con necrosis central.
(Técnica de Resonancia Magnética Cerebral).

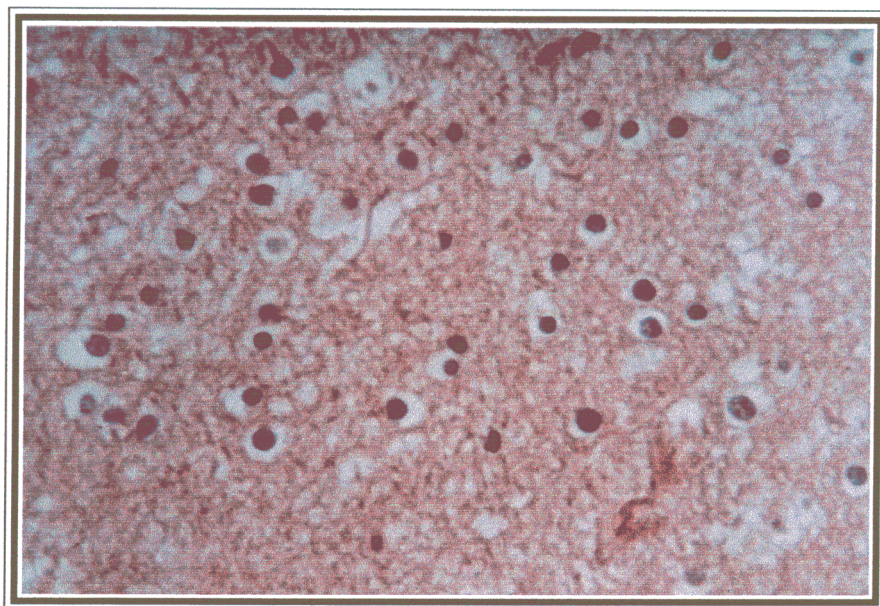
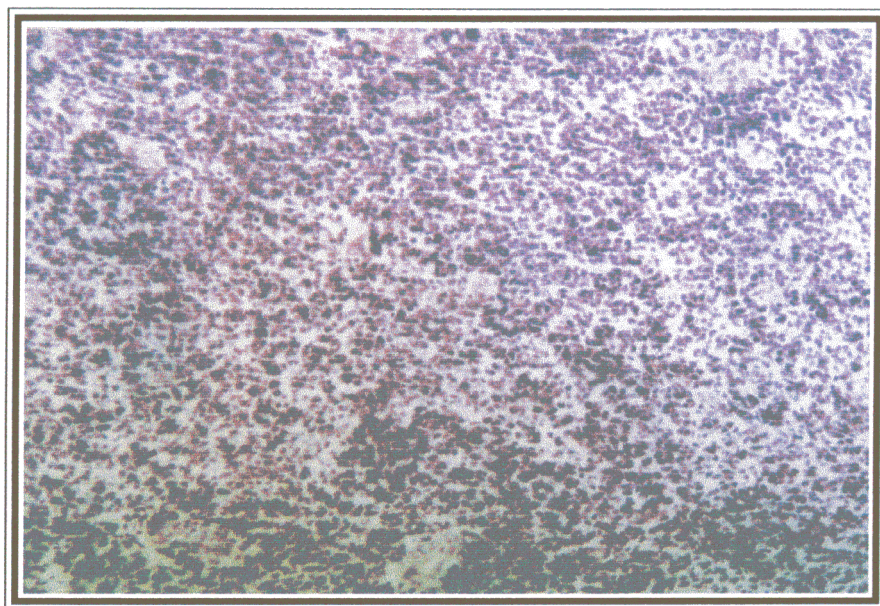
*Figura 2A**Figura 2B*

FIGURA 2

Figura 2: SUSTANCIA BLANCA. GLIA NORMAL Y TUMORAL

A) Sustancia Blanca (Histología normal). Destacan los núcleos vesiculosos de los astrocitos sobre fondo fibrilar. (Material de autopsia. Hematoxilina-Eosina; x 40)

B) Neoplasia astrocítica maligna. Obsérvese la gran densidad celular de la proliferación astrocítica tumoral. (Hematoxilina-Eosina; x 25)

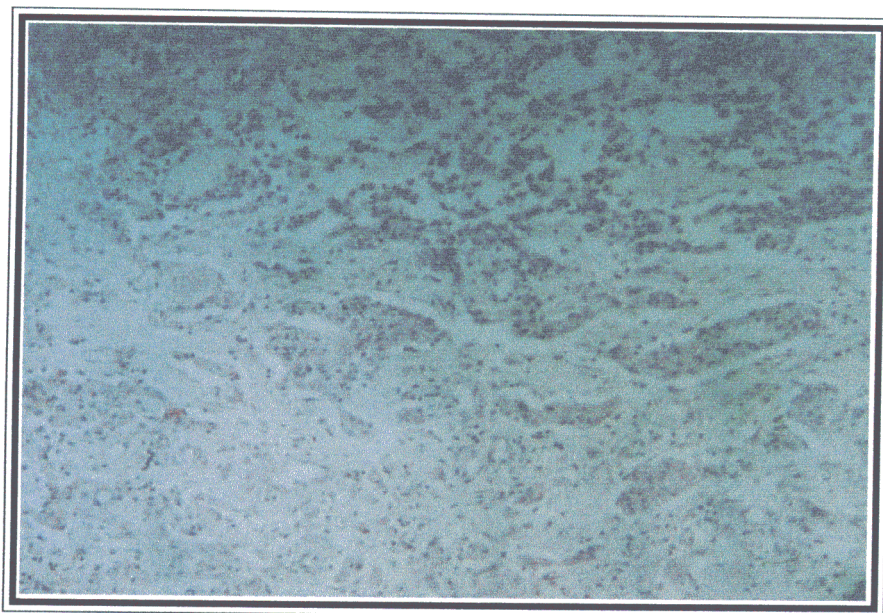
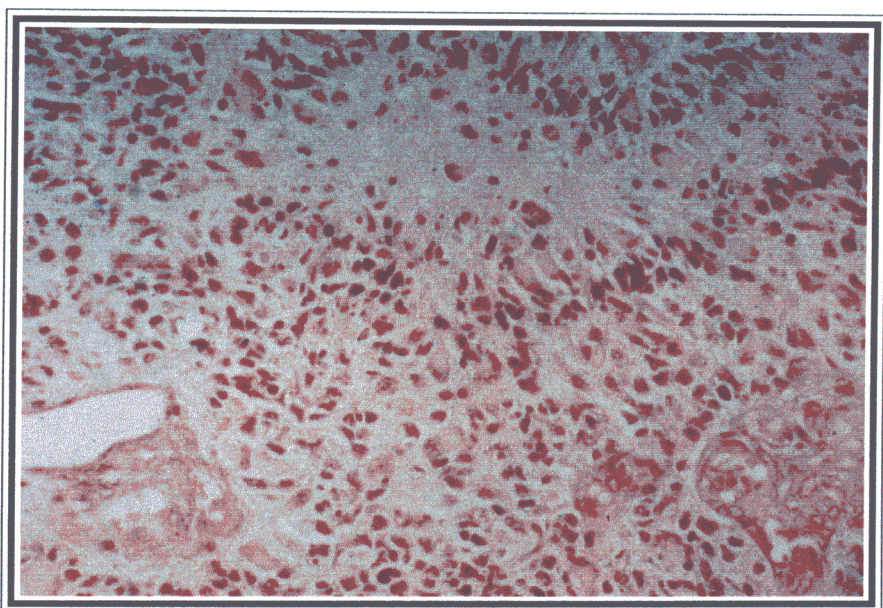
*Figura 3A**Figura 3B*

FIGURA 3

Figura 3: ANGIOGENESIS.

A) Proliferación Microvascular (MVP): Formaciones sólidas glomeruloides, por hiperplasia de células endoteliales que se disponen en varias capas. Junto a ellas, algunas estructuras vasculares ramificadas con hiperplasia adventicial. (Hematoxilina-Eosina; x 10).

B) Proliferación Microvascular (MVP) asociada a necrosis (zona superior). Abajo, izquierda: Formación telangiectásica asociada a MVP (Hematoxilina-Eosina; x 25).

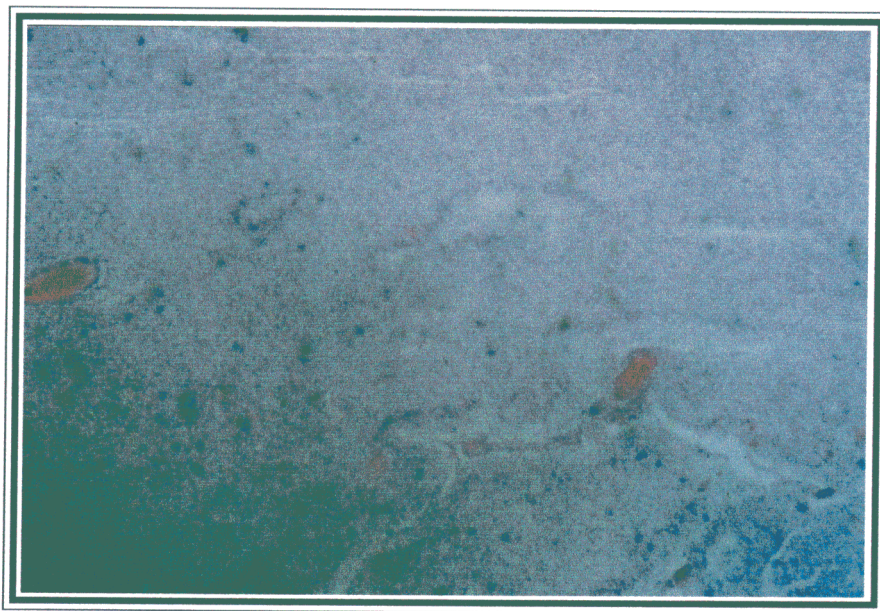


Figura 4A

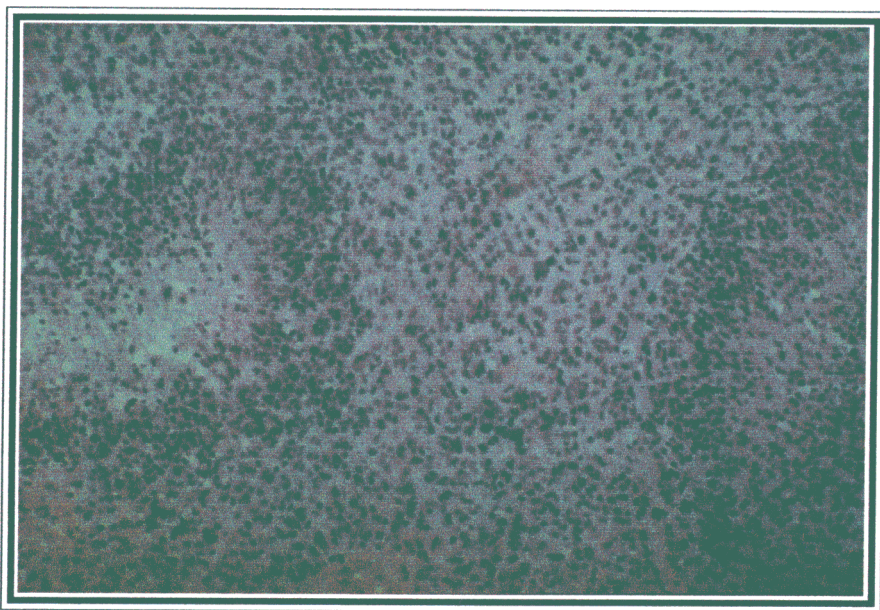


Figura 4B

FIGURA 4

Figura 4: NECROSIS.

A) y B) Areas de necrosis tumoral con empalizada celular periférica constituida en su mayor parte por astrocitos neoplásicos. (Hematoxina-Eosina; x 4 (A) y x 25 (B)).

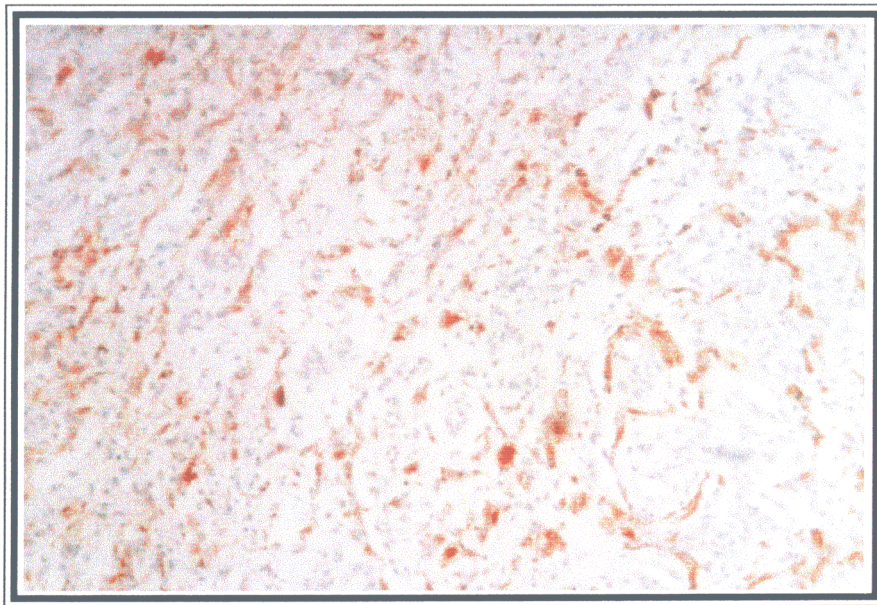
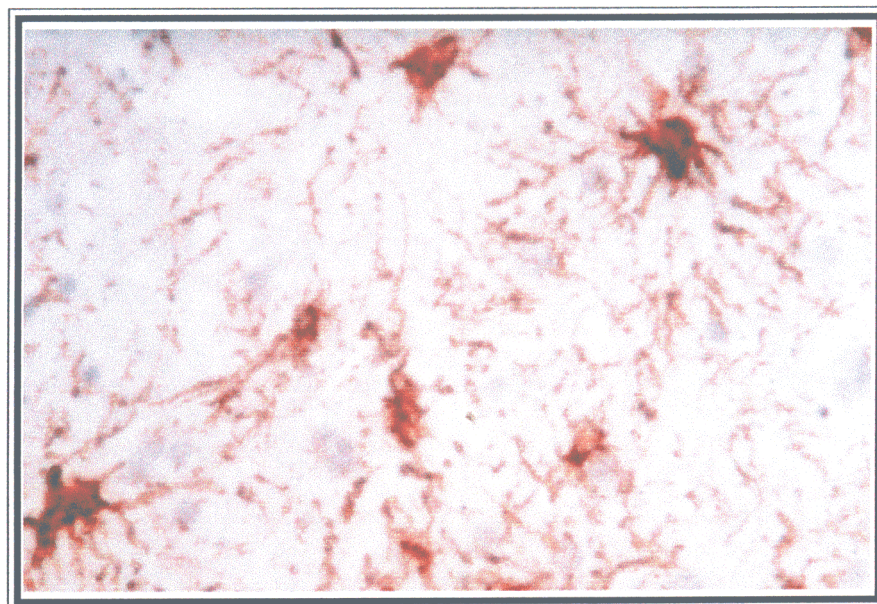
*Figura 5A**Figura 5B*

FIGURA 5

Figura 5: GLIA REACTIVA.

A) Angiogénesis tumoral constituida por ovillos vasculares tapizados por una capa de células endoteliales, con disminución de su luz, por engrosamiento parietal debido a hiperplasia adventicial. En su periferia aparecen numerosos astrocitos reactivos perivasculares. Estas formaciones fueron observadas en los márgenes de un astrocitoma maligno. (Técnica de GFAP; x 25).

B) Astrocitos reactivos con amplio soma y gruesas expansiones radiales, inmersas en neuropilo conservado. Fueron observadas en el margen de crecimiento de un astrocitoma maligno. (Técnica de GFAP; x 40).

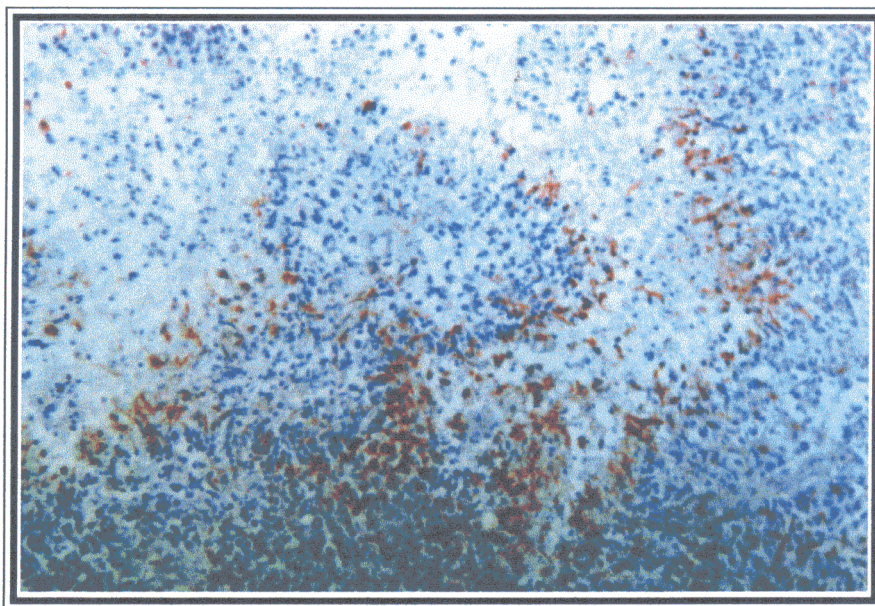
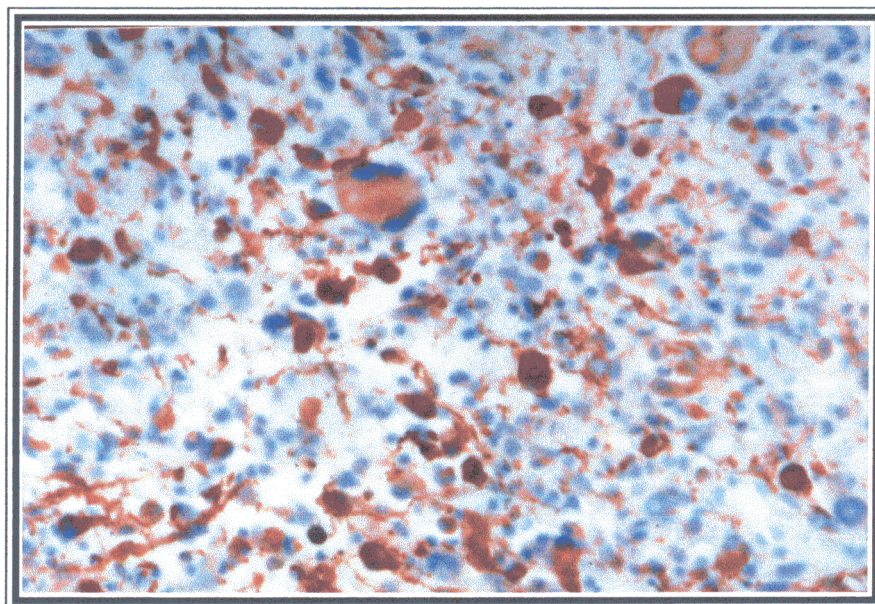
*Figura 6A**Figura 6B*

FIGURA 6

Figura 6: GLIA TUMORAL.

A) Astrocitos neoplásicos en los márgenes de una zona de necrosis. (Técnica de GFAP; x 10).

B) Astrocitos neoplásicos con positividad para GFAP, tanto en las grandes células atípicas, como en los menores desprovistos de ramificación, formando una compleja expresión de difícil cuantificación. La imagen corresponde a un glioblastoma de células gigantes. (Técnica de GFAP; x 25).

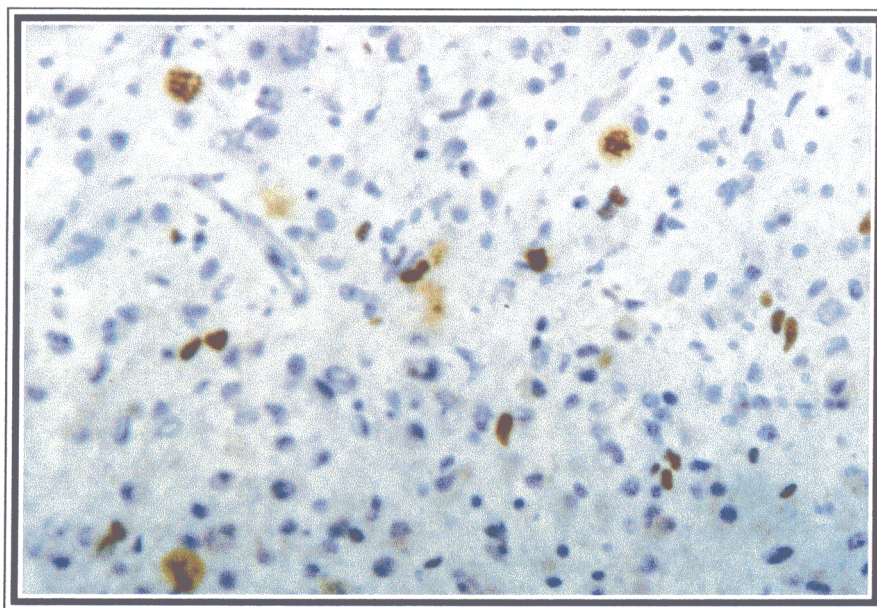
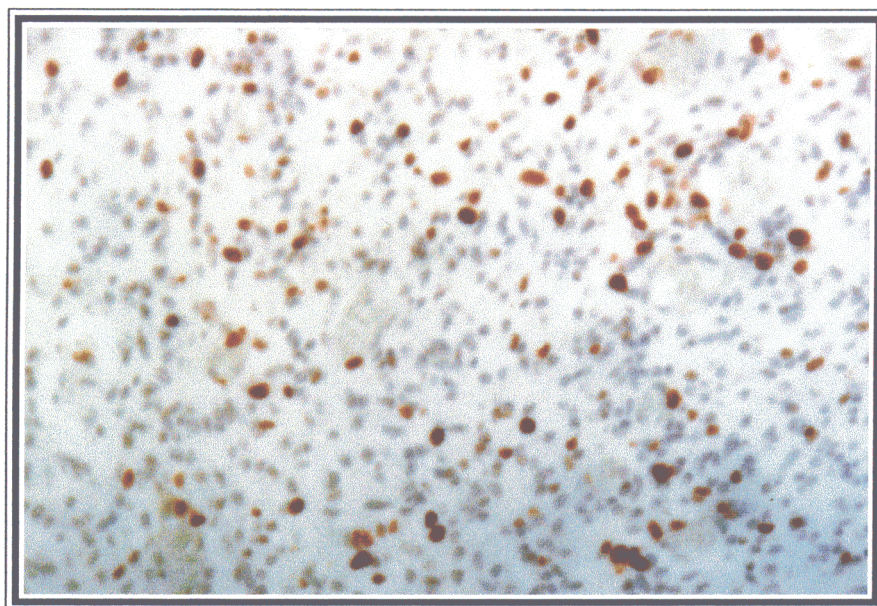
*Figura 7A**Figura 7B*

FIGURA 7

Figura 7: EXPRESION DE Ki-67.

A) Positividad tanto en las grandes células atípicas de carácter regresivo como en algunas células pequeñas en mitosis. Tumor con moderada actividad proliferativa. (Técnica de MIB 1; x 40).

B) Positividad en los núcleos de las células en mitosis. Tumor con elevada actividad proliferativa. (técnica de MIB 1; x 25).

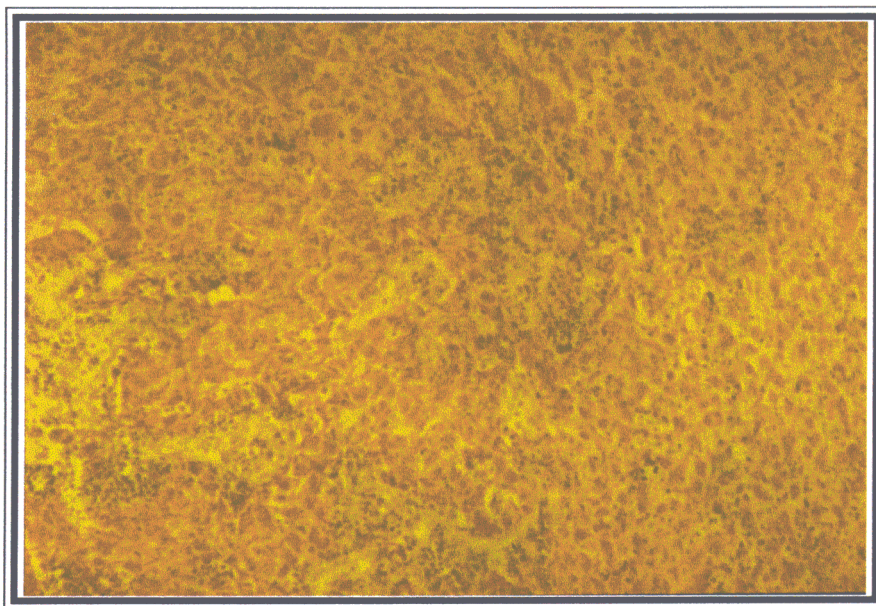
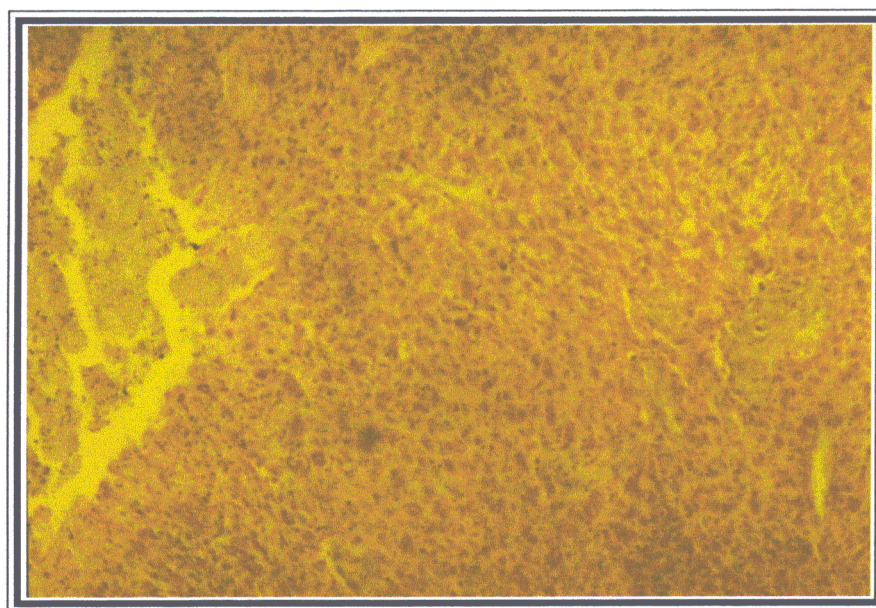
*Figura 8A**Figura 8B*

FIGURA 8

Figura 8: EXPRESION DE GFAP +++.

A) y B) Amplio y difuso marcaje de GFAP en el citoplasma de la mayor parte de las células tumorales. En ambos casos se observó angiogénesis; y en B) también necrosis. Obsérvese en A) la presencia linfocítica de disposición perivascular. (Técnica de GFAP; x 25).

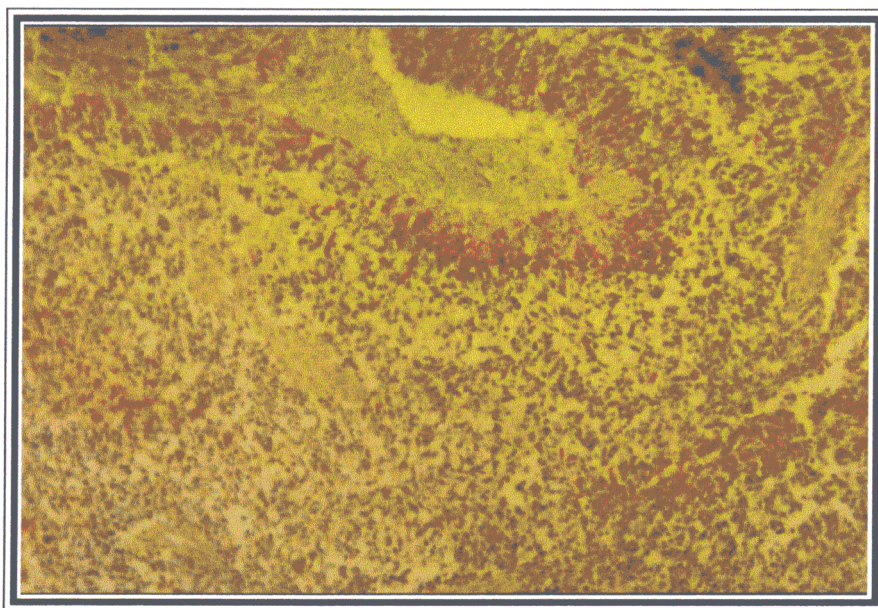
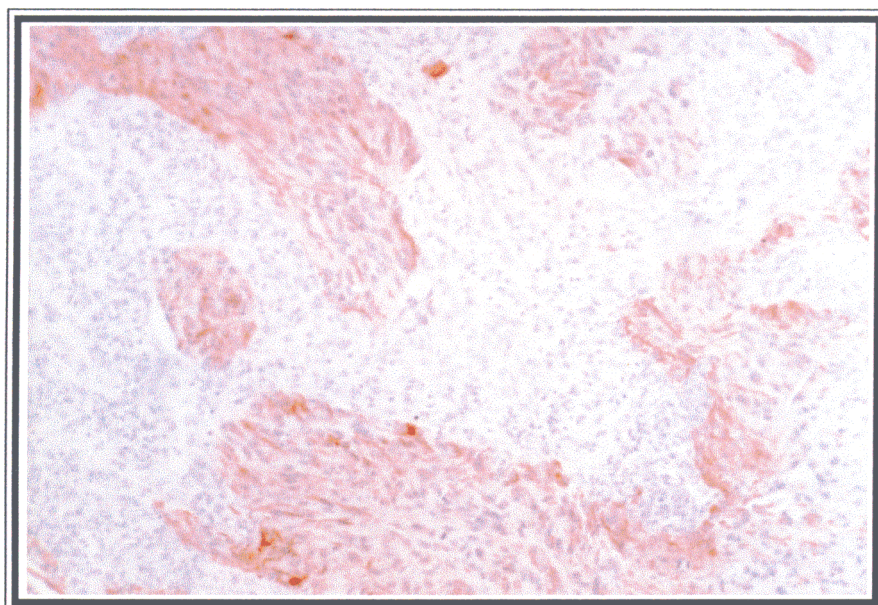
*Figura 9A**Figura 9B*

FIGURA 9

Figura 9: EXPRESION DE GFAP ++.

A) y B) Heterogeneidad en la expresión de GFAP, coexistiendo áreas de positividad y negatividad en la celularidad tumoral. (Técnica de GFAP; x 25 (A) y x 10 (B)).

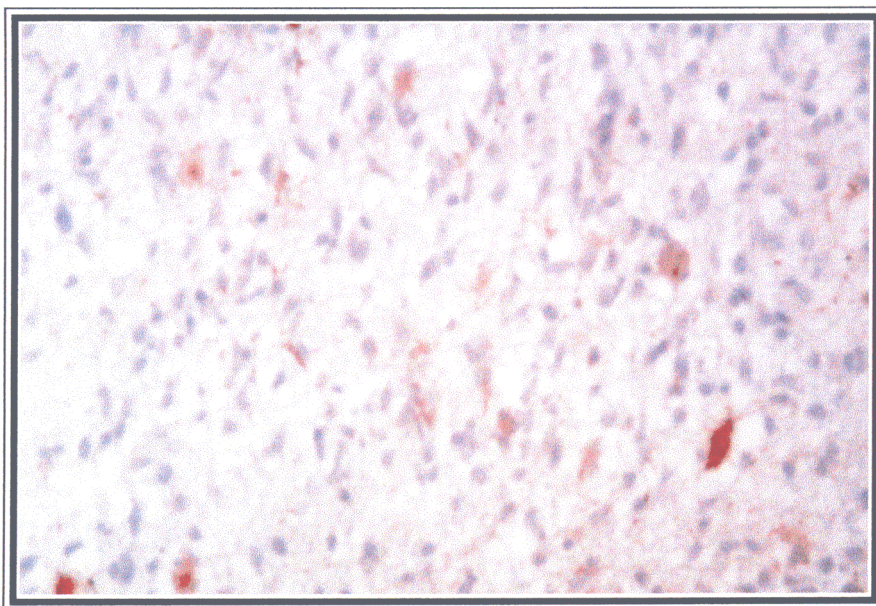
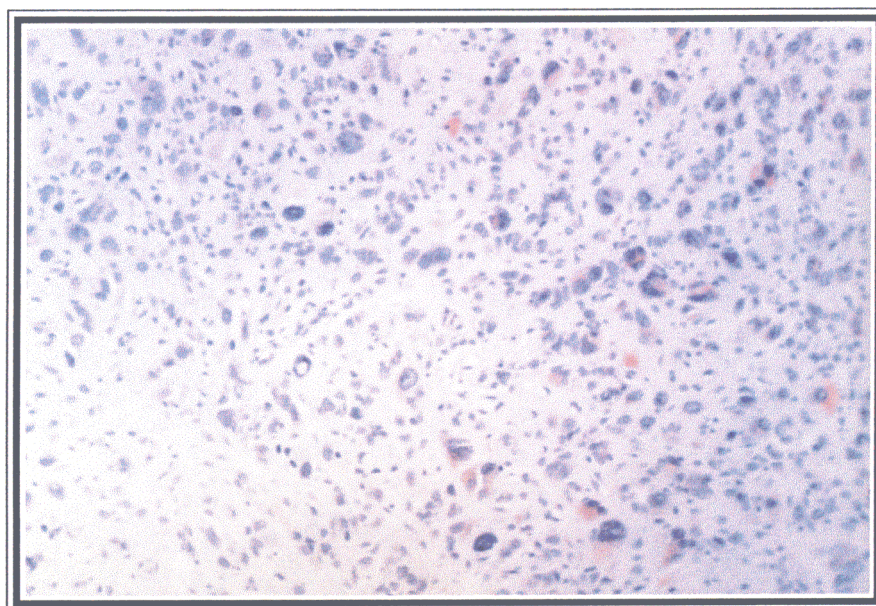
*Figura 10A**Figura 10B*

FIGURA 10

Figura 10: EXPRESION DE GFAP +.

A) Aislada positividad en esporádicos astrocitos neoplásicos. La mayor parte de ellos han perdido el contenido de GFAP. (Técnica de GFAP; x 25).

B) Escasa positividad, siendo ésta más evidente en las células gigantes atípicas de carácter regresivo que acumulan gliofilamentos. Imagen correspondiente a un glioblastoma de células gigantes. (Técnica de GFAP; x 10).

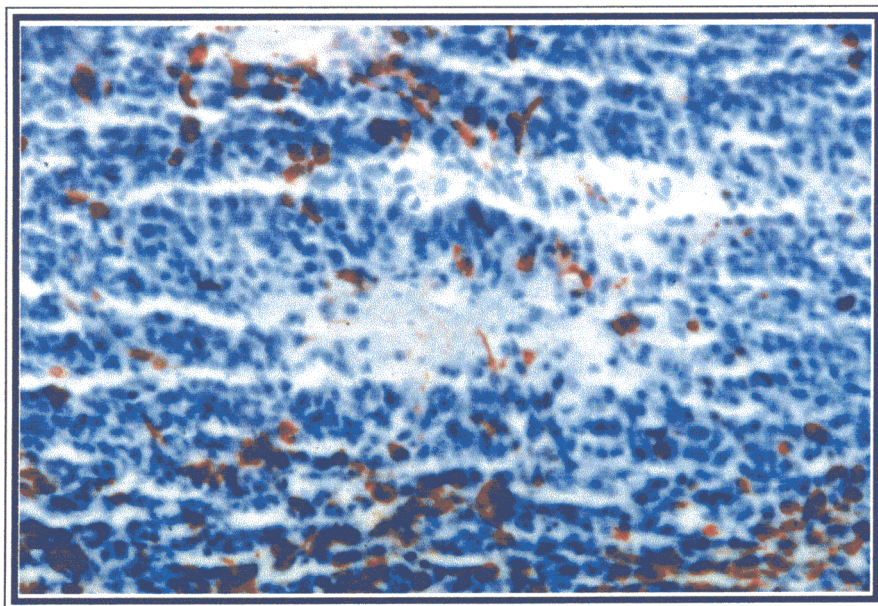
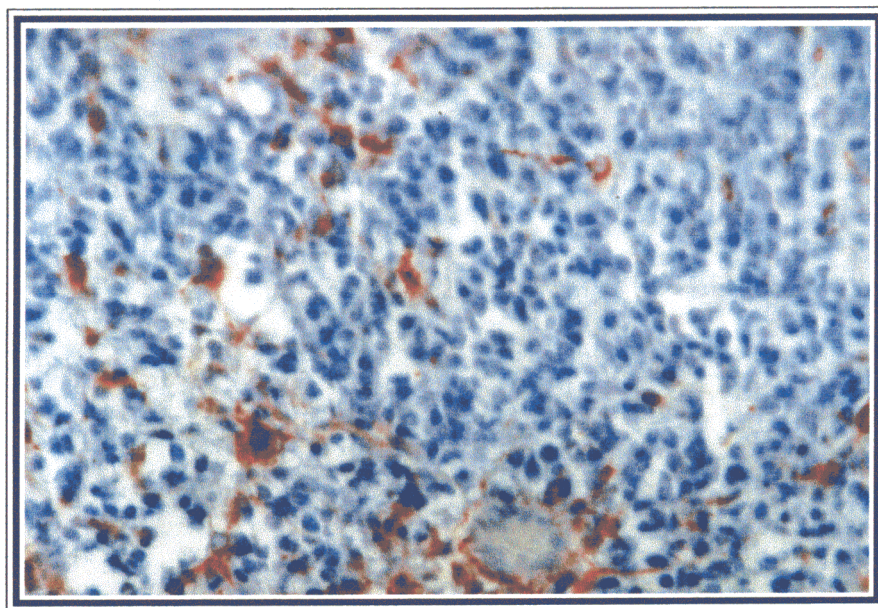
*Figura 11A**Figura 11B*

FIGURA 11

Figura 11: GLIOBLASTOMA DE CELULAS ISOMORFAS.

A) Glioblastoma con predominio de células pequeñas y esporádico marcaje con GFAP. En el centro de la imagen aparece un área de pseudonecrosis. (Técnica de GFAP; x 25).

B) Glioblastoma con predominio de células pequeñas con escasa positividad para marcaje con GFAP. Entre las células neoplásicas se identifican algunos astrocitos con ramificación GFAP positiva, algunos de ellos en

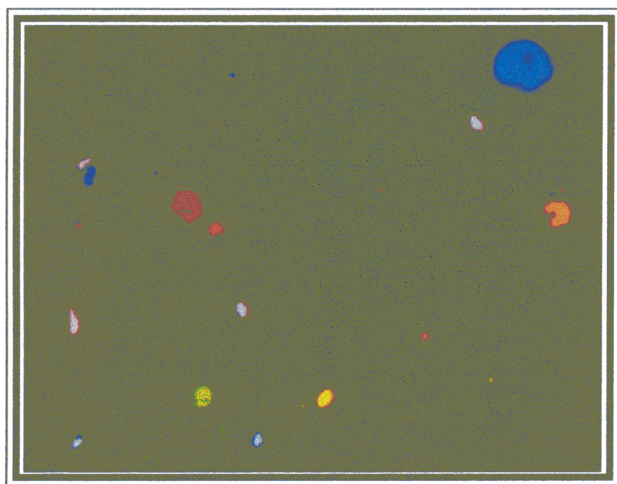


Figura 12A

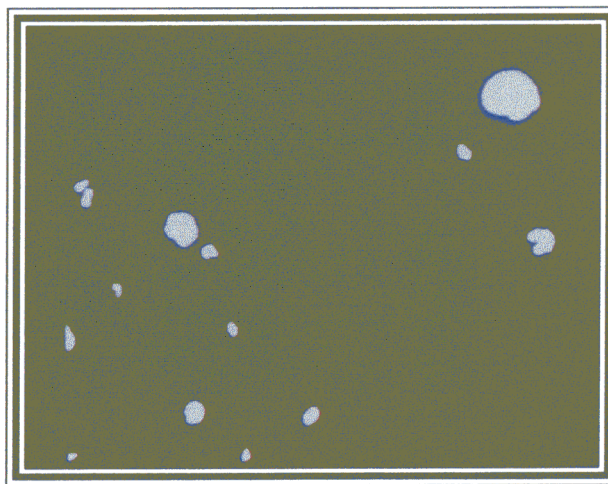


Figura 12B

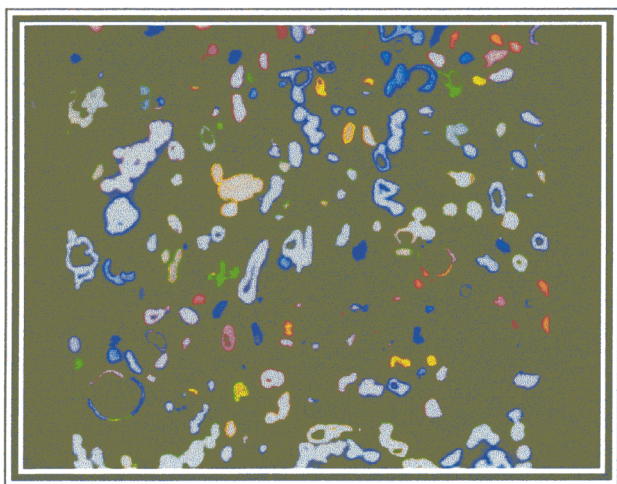


Figura 12C

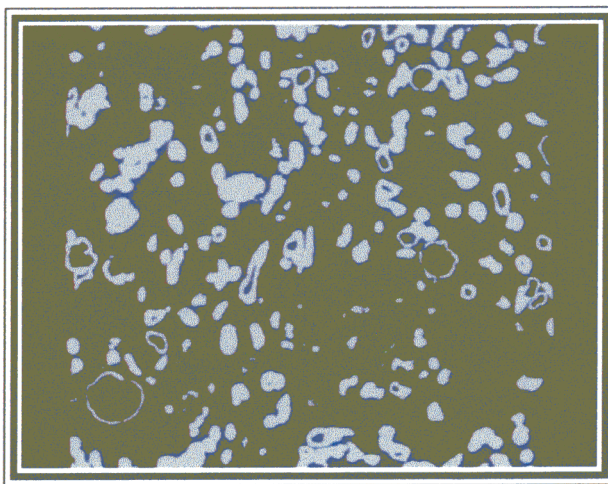


Figura 12D

FIGURA 12

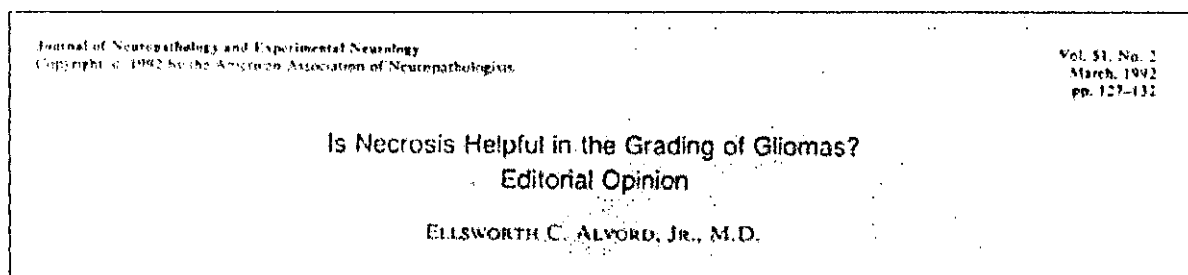
Figura 12: ANALISIS MORFOCITOMETRICO.

Se reproducen algunos de los pasos realizados en el análisis de imagen de positividad para el Ki-67 / MIB 1.

- A) Segmentación para células positivas.
- B) Identificación topográfica de los núcleos seleccionados con marcaje positivo.
- C) Segmentación para células negativas.
- D) Identificación topográfica de los núcleos seleccionados con marcaje negativo.

BIBLIOGRAFIA

1. AGRESTI A. Categorical data analysis. New York: John Wiley and Sons, 1990: 365-370.
2. ALBRIGHT P, JARRETT P, BILANIVK LT, et AL. Prognostic factors in pediatric brainstem gliomas. *J Neurosurg* 1986; 65: 751-755.
3. ALDAPE K, RAISANEN J, KERSCHMANN R, et al. Glioblastoma with mesenchymal elements («gliosarcoma»). *Brain Pathol* 1994; 4: 408.
4. ALVORD EC Jr. Is necrosis helpful in the grading of gliomas? *J Neuropathol Exp Neurol* 1992; 51: 127-132.



5. AMMIRATI M, VICK N, LIAO Y, et al. Effect of the extent of surgical resection on survival and quality of life en patients with supratentorial glioblastomas and anaplastic astroцитomas. *Neurosurgery* 1987; 21: 201-206.
6. ANTANIUS DS, CHOI BH, LAPHAM LW. The demonstration of glial fibrillary acidic protein in the cerebrum of the human fetus by indirect immunofluorescence. *Brain Res* 1976; 103: 613-616.
7. APPELEY AJ, FITZGIBBONS PL, CHANDRASOMA PT, et al. Multiparameter flow cytometric analysis of neoplasms of the central nervous system: correlation of nuclear antigen plo 5 and DNA content with clinical behavior. *Neurosurgery* 1990; 27: 83-96.
8. ARTIGAS J, CERVOS-NAVARRO J, IGLESIAS JR, et al. Gliomatosis cerebri: clinical and histological finfings. *Clin Neuropathol* 1985; 4: 135-148.
9. ASARI S, MAKABE T, KATAYAMA S. Assessment of the pathological grade of astrocytic gliomas using on MRI score. *Neuroradiology* 1994; 36: 308-310.
10. BADING H, RAUTERBERG E, MOELLING K. Distribution of c-myc, c-myb, and Ki-67 antigens in interphase and mitotic human cells evidenced by immunofluorescence staining technique. *Exp Cell Res* 1989; 185: 50-59.
11. BAILEY P, CUSHING H. A classification of the tumors of the Glioma Group on a Histogenetic Basis with a Correlated Study of Prognosis. Philadelphia: Lippincott, 1926.
12. BAISCH H, GERDES J. Simultaneous staining of exponentially growing versus plateau phase cells with the proliferation associated antibody Ki-67 and propidium iodide: analysis by flow cytometry. *Cell Tissue Kinet* 1987; 387-391.
13. BALKO MG, BLISARD KS, SAMAHA FJ. Oligodendroglial gliomatosis cerebri. *Hum Pathol* 1992; 23: 706-707.

14. BALTUCH GH, DOOLEY NP, ROSTWOROWSKI KM, et al. Protein kinase C isoform alpha overexpression in C6 glioma cells and its role in cell proliferation. *J Neurooncol* 1995; 24: 241-250.
15. BARKER FG, DAVIS RL, CHANG SM, et al. Necrosis as a prognostic factor en glioblastoma multiforme. *Cancer* 1996; 77(6): 1161-66.
16. BARNARD RD, GERDES JF. The incidence of multifocal cerebral gliomas, a histologic study of large hemisphere sections. *Cancer* 1987; 60: 1519-1531.
17. BERNSTEIN M, LAPERRIERE N, GLEN J, et al. Brachytherapy for recurrent malignant astrocytoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 30: 1213-1217.
18. BIGNAMI A, ENG LF, DAHL J, et al. Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence. *Brain Res* 1972; 43: 429-435.
19. BLACK PM. Brain tumors (first of two parts). *N Engl J Med* 1991; 324 (21): 1471-76.
20. BLACK PM. Brain tumors (second of two parts). *N Engl J Med* 1991; 324 (22): 1555-64.
21. BONNIN JM, PEÑA CE, RUBINSTEIN LJ. Mixed capillary hemangioblastoma and glioma. A redefinition of the «angioglioma». *J Neuropathol Exp Neurol* 1983; 42: 504-516.
22. BONNIN JM, RUBINSTEIN LJ. Immunohistochemistry of central nervous system tumors. *J Neurosurg* 1984; 60: 1121-33.
23. BOUZUBAR N, WALKER KJ, GRIFFITHS K, et al. Ki-67 immunostaining in breast primary breast cancer: pathological and clinical associations. *Br J Cancer* 1990; 59: 943-956.
24. BRADA M, LAING RW, GRAHAM J, et al. Fractionated stereotactic radiotherapy in the treatment of recurrent high grade glioma: close escalation study. *Acta Neurochir* 1993; 122: 151-155.
25. BRAUN N, PAPADOPOULOS T, MULLER HK. Cell cycle dependent distribution of the proliferation associated Ki-67 antigen in human embryonic lung cells. *Wirschows Archiv B Cell Pathol* 1988; 56: 25-33.
26. BREM H, PIANTADOSI S, BURGER PC, et al. Placebo-controlled trial of safety and efficacy of intraoperative controlled delivery by biodegradable polymers of chemotherapy for recurrent gliomas. *Lancet* 1995; 345: 1008-1012.
27. BRODERS AC. Carcinoma grading and practical applications. *Arch Pathol Lab Med* 1926; 2: 376-381.
28. BROWN DC, GATTER KC. Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. *Histopathology* 1990; 17: 489-503.
29. BRUNER JM. Neuropathology of Malignant Gliomas. *Sem Oncology* 1994; 21(2): 126-138.
30. BRUNO S, DARZYNKIEWICZ Z. Cell cycle dependent expression and stability of the nuclear protein detected by Ki-67 antibody in HL-60 cells. *Cell Prolif* 1992; 25: 31-40.
31. BUATTI JM, FRIEDMAN WA, BOVA FJ, et al. Linac radiosurgery for high-grade gliomas: the University of

Florida experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 32: 205-210.

32. BUCKNER JC, BROWN LD, KUGLER JW, et al. Phase II evaluation of recombinant interferon alpha and BCNU in recurrent glioma. *J Neurosurg* 1995; 82: 430-435.

33. BUDKA H. Non-glial specificities of immunocytochemistry for the glial fibrillary acidic protein (GFAP). Triple expression of GFAP, Vimentin and cytoqueratins in papillary meningioma and metastasizing renal carcinoma. *Acta Neuropathol* 1986; 72: 43-54.

34. BUDKA H, MAJDIC O. Shared antigenic determinants between human hematopoietic cells and nervous tissues and tumors. *Acta Neuropathol* 1985; 67: 58-66.

35. BURGER PC, GRAHAM FC, BLIESTLE A, et al. Differentiation in the medulloblastoma: A histological and immunohistochemical study. *Acta Neuropathol* 1987; 73: 115-123.

36. BURGER PC, GREEN SB. Patient age, histologic features, and length of survival in patients with Glioblastoma Multiforme. *Cancer* 1987; 59: 1617-25.

37. BURGER PC, KLEIHUES P. Cytologic composition of the intreated glioblastoma with implications for the evaluation of needle biopsies. *Cancer* 1989; 63: 2014-2023.

38. BURGER PC, SCHEITHAVER BW. Tumors of the Central Nervous System. Atlas of Tumor Pathology, 3rd Series, Fascicle 10. Washington, DC.: Armed Forces Institute of Pathology 1994: 10-22, 25-68.

39. BURGER PC, SCHEITHAVER BW, VOGEL FS. Brain tumors. In *Surgical pathology of the nervous system and its covering*. 3rd ed. New York: Churchill Livingstone, 1991: 193-437.

40. 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: 611-617.

41. BURGER PC, VOGEL FS, GREEN SB, et al. Glioblastoma Multiforme and Anaplastic Astrocytoma. Pathologic criteria and prognostic implications. *Cancer* 1985; 56: 1106-1111.

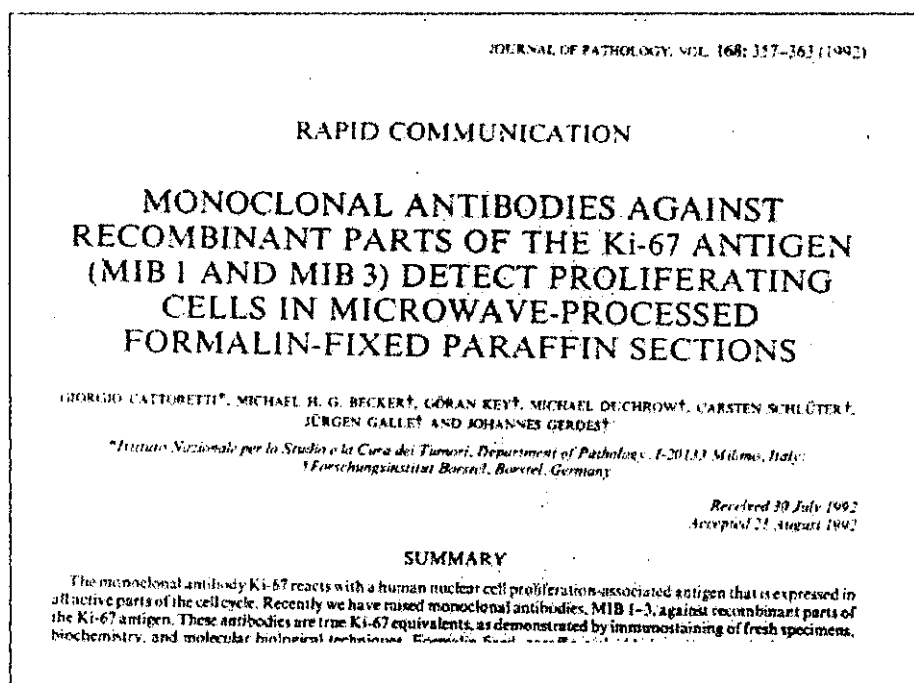
Glioblastoma Multiforme and Anaplastic Astrocytoma

Pathologic Criteria and Prognostic Implications

PETER C. BURGER, MD,* F. STEPHEN VOGEL, MD,* SYLVAN B. GREEN, MD,†
AND THOMAS A. STRIKE, PhD‡

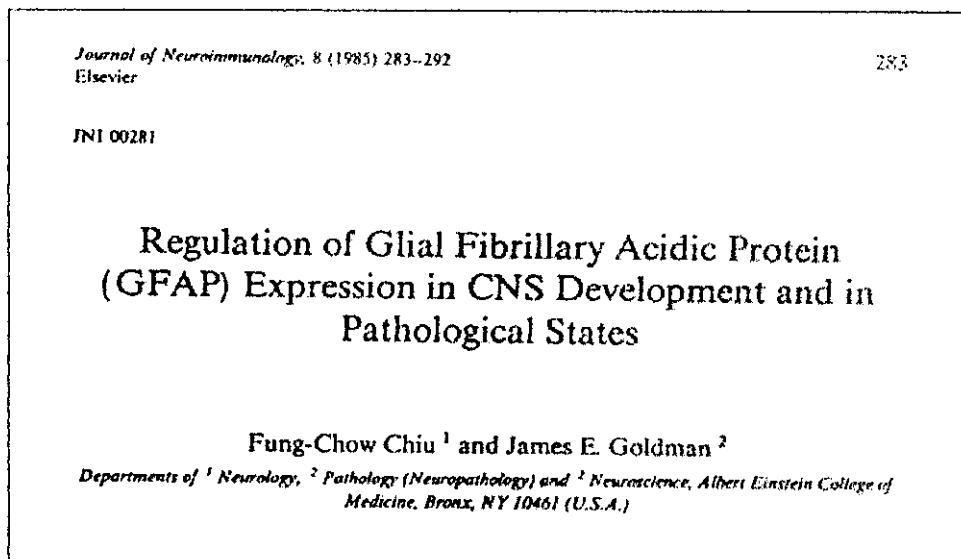
42. CACCAMO DV, HERMAN MM, RUBINSTEIN LJ. An immunohistochemical study of the primitive and maturing elements of human cerebral medulloepitheliomas. *Acta Neuropathol* 1989; 79: 248-254.

43. CAJAL SR, de CASTRO F. Técnica micrográfica del Sistema Nervioso. Madrid, 1933: 236-263.
44. CALOGERO J, CRAFTS DC, WILSON CB, et al. Long term survival of patients treated with BCNU for brain tumors. *J Neurosurg* 1975; 43: 191-196.
45. CAMPANA D, COUSTAN-SMITH E, JANOSSY G. «Cytoplasmic» expression of nuclear antigens. *Leukemia* 1989; 3: 239-241.
46. CARBIN BE, EKMAN P, GUSTAFSON H, et al. Grading of human urothelial carcinoma based on nuclear atypia and mitotic frequency. II. Prognostic importance. *J Urol* 1991; 145: 972-976.
47. CATTORETTI G, BECKER MHG, KEY G, et al. Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB-1 and MIB-3) detected proliferating cells in microwave processed formalin-fixed paraffin sections. *J Pathol* 1992; 168: 357-363.



48. CATTORETTI G, DOMIONI F, FUSILLI F, et al. Microwave oven irradiation versus trypsin digestion for antigen unmasking in fixed paraffin embedded material (abstract). *J Histochem* 1992; 24: 594.
49. CAVANAGH JB, LEWIS PD. Perfusion-fixation colchicine and mitotic activity in the adult rat brain. *J Anat* 1969; 104: 341-350.
50. CERDA-NICOLAS M, KEPPESS JJ. Glioblastomas (including malignant forms), and gliosarcomas: a comparative study and review of the literature. *Acta Neuropathol* 1993; 85(4): 349-361.
51. CHAMBERLAIN MC, SILVER P, LEVIN VA. Poorly differentiated gliomas of the cerebellum: a study of 18 patients. *Cancer* 1990; 65: 337-340.

52. CHANG CH, HORTON J, SCHENFELD D, et al. Comparison of postoperative radiotherapy and combined postoperative radiotherapy and chemotherapy in the multidisciplinary management of malignant gliomas. *Cancer* 1983; 52: 997-1007.
53. CHIU FCH, GOLDMAN JE. Regulation of glial acidic protein (GFAP) expression in CNS development and in pathological states. *J Neuroimmunol* 1985; 8: 283-292.



54. CHOI BH. Glial fibrillary acidic protein in radial glia of early human fetal cerebrum: a light and electron microscopic immunoperoxidase study. *J Neuropathol Exp Neurol* 1986; 45: 408-418.
55. CHRETIEN F, GRAY F, FUNALOT B, et al. Extracerebral metastases of a glioblastoma, in the absence of surgery. *Arch Anat Cytol Pathol* 1995; 43: 342-349.
56. CIAPPETA P, SALVTI M, CAPOCCIA G, et al. Spinal Glioblastomas: report of seven cases and review of the literature. *Neurosurgery* 1991; 28: 302-306.
57. CLARK GB, HENRY JM, Mc KEEVER VE. Cerebral pilocytic astrocytomas. *Cancer* 1985; 56: 1128-1133.
58. COFFEY RJ, LUNSFORD LD, TAYLOR FH. Survival after stereotactic biopsy of malignant gliomas. *Neurosurgery* 1988; 22: 465-473.
59. COFFIN CM, MUKAI K, DEHNER LP. Glial differentiation in medulloblastomas. *Am J Surg Pathol* 1983; 7: 555-565.
60. COLEMAN CN. Hypoxia in tumors: a paradigm for the approach to biochemical and physiologic heterogeneity. *J Natl Cancer Inst* 1988; 80: 299-306.
61. COONS SW, JOHNSON PC. Regional heterogeneity of the DNA content of human gliomas. *Cancer* 1993; 72: 3052-3060.
62. COONS SW, JOHNSON PC. Regional heterogeneity in the proliferative activity of human gliomas as measured by Ki-67 labeling index. *J Neuropathol Exp Neurol* 1993; 52: 609-618.

63. COONS SW, JOHNSON PC, PEARL DK. Prognostic significance of flow cytometry deoxyribonucleic acid analysis of human astrocytomas. *Neurosurgery* 1994; 35: 119-126.
64. COONS SW, JOHNSON PC, SCHEITHAUER BW, et al. Improving diagnostic accuracy and interobserver concordance in the classification and grading of primary gliomas. *Cancer* 1997; 79(7): 1381-1393.

Improving Diagnostic Accuracy and Interobserver Concordance in the Classification and Grading of Primary Gliomas

Stephen W. Coons, M.D.¹
 Peter C. Johnson, M.A., M.D.¹
 Bernd W. Scheithauer, M.D.²
 Allan J. Yates, M.D., Ph.D.²
 Dennis K. Pearl, Ph.D.⁴

BACKGROUND. Accurate histologic diagnosis of gliomas is fundamental to proper patient management and to the interpretation of basic and clinical investigations. Diagnostic accuracy and reproducibility are compromised by the subjective histologic criteria currently used to classify and grade gliomas.

METHODS. The histologic features of 4 sets of gliomas (a total of 244 cases) were reviewed independently by 4 neuropathologists to determine interobserver diag-

65. COOPER S. The continuum model: application to G1 arrest and G0. In Nicolini C ed. *Cell Growth: NATO Advanced study series. A life sciences*. New York: Plenum Press, 1982; 38: 315-336.
66. COSGROVE M, FITZGIBBONS PL, SHERROD A, et al. Intermediate filament expression in astrocytic neoplasms. *Am J Surg Pathol* 1989; 13: 141-145.
67. COTRAN RS, KUMAR V, ROBBINS SL. *Patología funcional y estructural de Robbins*. Schoen FJ ed. (5ª ed en esp.). Madrid: Mc Graw-Hill / Interamericana, 1995: 333.
68. COULDWELL WT, de TRIBOLET N, ANTEL JP, et al. Adhesion molecules and malignant gliomas: implications for tumorigenesis. *J Neurosurg* 1992; 76: 782-791.
69. COURVILLE CB. Multiple primary tumors of the brain: review of the literature and report of twenty one cases. *Am J Cancer* 1936; 26: 703-731.
70. COX DR. Regression models and life tables. *JR Stat Soc (B)* 1972; 34: 187-220.
71. CRUZ SANCHEZ FF, ROSSI ML, HUGHES JT, et al. Medulloblastoma. An immunohistological study of 50 cases. *Acta Neuropathol* 1989; 79: 205-210.
72. DAHL D, BIGNAMI A. Immunogenic properties of the glial fibrillary acidic protein. *Brain Res* 1976; 116: 150-157.
73. DALRYMPLE SJ, PARISI JE, ROCHE PC, et al. Changes in proliferating cell nuclear antigen expression in glioblastoma multiforme cells along stereotactic biopsy trajectory. *Neurosurgery* 1994; 35: 1036-1045.
74. DANKS RA, CHOPRA G, GONZALES MF, et al. Aberrant p53 expression does not correlate with the prognosis in Anaplastic Astrocytoma. *Neurosurgery* 1995; 37(2): 246-254.
75. DANKS RA, ORIAN JM, GONZALES MF, et al. Transformation of astrocytes in transgenic mice expressing

SV40T antigen under the transcriptional control of the glial fibrillary acidic protein promotor. *Cancer Res* 1995; 55: 4302-4310.

76. DAUMAS-DUPORT C. Histological grading of gliomas. *Curr Opin Neurol Neurosurg* 1992; 5: 924-931.

77. DAUMAS-DUPORT C, SCHEITHAUER B, O'FALLON J, et al. Grading of astrocytomas: a simple and reproducible method. *Cancer* 1988; 62: 2152-65.

Grading of Astrocytomas

A Simple and Reproducible Method

CATHERINE DAUMAS-DUPORT, MD, PhD,*† BERND SCHEITHAUER, MD,*
JUDITH O'FALLON, PhD,‡ AND PATRICK KELLY, MD§

78. DAVIS RL. Grading of gliomas, in Fields WS(ed): *Primary Brain Tumors. A review of histologic Classification*. New York: Springer-Verlag, 1989: 150-158.

79. DEAN BL, DRAYER BP, BIRD CR, et al. Gliomas: classification with MR Imaging. *Radiology* 1990; 174: 411-415.

80. DE ARMOND SJ, ENG LF, RUBINSTEIN LJ. The application of fibrillary acidic protein immunohistochemistry in neurooncology. *Pathol Res Pract* 1980; 168: 374-394.

81. DECK JHN, ENG LF, BIGBEE J, et al. The role of glial fibrillary acidic protein in the diagnosis of central nervous system tumours. *Acta Neuropathol* 1978; 42: 183-190.

82. DECK JHN, RUBINSTEIN LJ. Glial fibrillary acidic protein in stromal cells of some capillary hemangioblastomas: significance and possible implications of an immunoperoxidase study. *Acta Neuropathol* 1981; 42: 183.

83. DECKERT M, REIFENBERGER G, WECHSLER W. Determination of the proliferative potential of human brain tumors using the monoclonal antibody Ki-67. *J Cancer Res Clin Oncol* 1989; 115: 179-188.

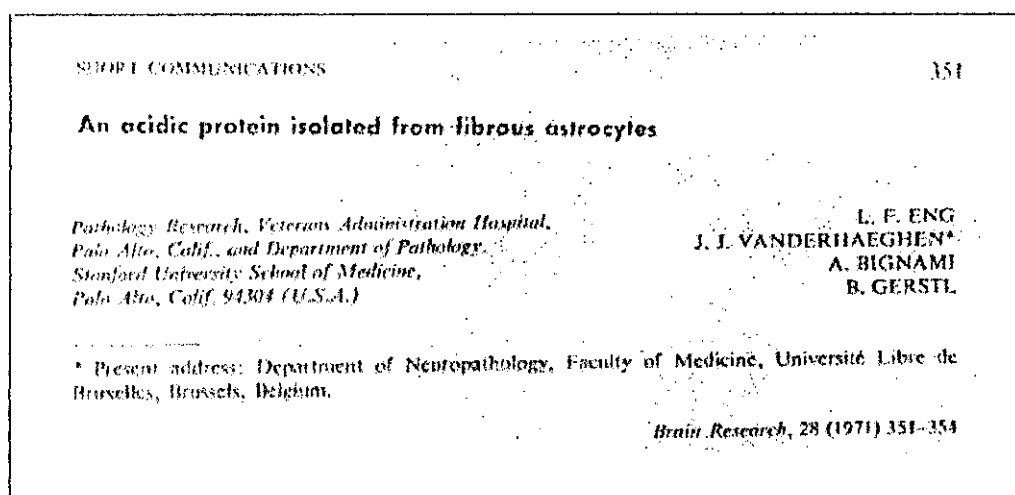
84. DELATTRE JY, UCHUYA M. Radiotherapy and chemotherapy for gliomas. *Current Opinion in Oncology* 1996; 8(3): 196-203.

85. DINAPOLI RP, BROWN LD, ARUSELL RM, et al. Phase III comparative evaluation of PCNU and carmustine combined with radiation therapy for high grade glioma. *J Clin Oncol* 1993; 11: 1316-21.

86. DONHUIJSEN K, SCHMIDT U, HIRCHE H, et al. Changes in mitotic rate and cell-cycle fractions caused by delayed fixation. *Hum Pathol* 1990; 21: 709-714.

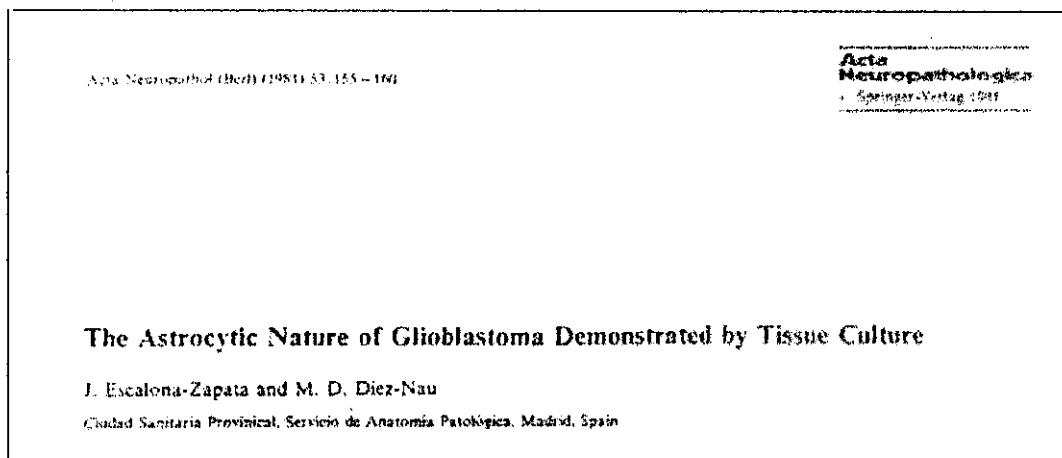
87. DROPCHO EJ, SOONG SJ. The prognostic impact of prior low grade histology in patients with anaplastic gliomas: a case-control study. *Neurology* 1996; 47(3): 684-690.

88. DU MANOIR S, GUILLAUD P, CAMUS E, et al. Ki-67 labeling in post-mitotic cells defines different Ki-67 pathways within the 2c compartment. *Cytometry* 1991; 12: 445-463.
89. DUFFY PE, GRAF L, RAPPORT MM. Identification of glial fibrillary acidic protein by the immunoperoxidase method in human brain tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 1977; 36: 645-652.
90. DUFFY PE, GRAF L, HUANG YY, et al. Glial fibrillary acidic protein in ependymomas and other brain tumors. *J Neurol Sci* 1979; 40: 133-146.
91. DUFFY PE, HUANG YY, RAPPORT MM. Glial fibrillary acidic protein in giant cell tumors of brain and other gliomas. A possible relationship to malignancy, differentiation, and pleomorphism of glia. *Acta Neuropathol* 1980; 52: 51-57.
92. DURMAZ R, ERKEN S, ARSLANTAS A, et al. Management of glioblastoma multiforme: with special reference to recurrence. *Clin Neurol Neurosurg* 1997; 99: 117-123.
93. ELLISON DW, STEART PV, BATEMAN AC, et al. Prognostic factors in a range of astrocytic tumours: an immunohistochemical study with Ki-67 and p53 antibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995; 59: 413-419.
94. ELVIDGE AR, PENFIELD W, CONE W. The gliomas of the central nervous system. A study of two hundred and ten verified cases. *Proc Assoc Res Nerv Ment Dis* 1935; 16: 107-181.
95. ENG LF. The glial fibrillary acidic (FFA) protein. In: Bradshaw RA, Schneider DM eds. *Proteins of the nervous system*. 2nd ed. New York: Raven Press, 1980: 85-117.
96. ENG LF, VANDERAEGHEN JJ, BIGNAMI A, et al. An acidic protein isolated from fibrous astrocytes. *Brain Res* 1971; 28: 351-354.



97. ENG LF, RUBINSTEIN LJ. Contribution of immuno-histochemistry to diagnostic problems of human cerebral tumors. *J Histochem Cytochem* 1978; 26: 513-522.
98. EPSTEIN FJ, FARMER JP, FREED D. Adult intramedullary astrocytomas of the spinal cord. *J Neurosurg* 1992; 77: 355-9.
99. ESCALONA ZAPATA J. Astrocitomas hemisféricos y sus derivados. *Patología* 1990; 23(4): 277-280.

100. ESCALONA ZAPATA J. Tumores del Sistema Nervioso Central. 1ª ed. Madrid: Universidad Complutense, 1996.
101. ESCALONA ZAPATA J. Astrocytes in brain tumours. Differentiation or trapping?. *Histol Histopath* 1994; 9: 325-332.
102. ESCALONA ZAPATA J, DIEZ NAU MD. The astrocytic nature of glioblastoma demonstrated by tissue culture. *Acta Neuropathol* 1981; 53(2): 155-160.



103. ESCOUROLLE R, POIRIER J. Manual de Neuropatología. 1ª ed. española. Barcelona: Toray Masson, 1978.
104. EVANS HL, AYALA AG, ROMSDAHL MM. Prognostic factors in chondrosarcoma of bone: a clinicopathologic analysis with emphasis on histologic grading. *Cancer* 1977; 40: 818-831.
105. FALINI B, FLENCI L, FAGLIOLI M. Evolutionary conservation in various mammalian species of the human proliferation associated epitope recognized by the Ki-67 monoclonal antibody. *J Histochem Cytochem* 1989; 37: 1471-78.
106. FLEISS JL, NEE JC, LANDIS JR. Large sample variance of kappa in the case of different sets of raters. *Psychol Bull* 1979; 88: 974-977.
107. FOLKMAN J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* 1990; 82: 4-6.
108. FOLKMAN J, KLAGSBRUN M. Angiogenic factors. *Science* 1987; 235: 442.
109. FOLKMAN J, WATSON K, INGBER D, et al. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* 1989; 389: 58-61.
110. FORSYTH PA, SHAW G, SCHEITHAUER B, et al. Supratentorial pilocytic astrocytomas. A clinicopathologic prognostic, and cytometric study of 51 patients. *Cancer* 1993; 72: 1335-1342.
111. FULLER GN, BURGER PC. Central nervous system. In: Sternberg S, ed. *Histology for pathologists*. New York: Raven Press, 1992: 145-167.
112. FULLING KH, GARCIA DM. Anaplastic Astrocytoma of the adult cerebrum: prognostic value of histologic features. *Cancer* 1985; 55: 928-931.

113. GAFFNEY CC, SLOANE JP, BRADLEY NJ, et al. Primitive neuroectodermal tumours of the cerebrum. Pathology and treatment. *J Neurooncol* 1985; 3: 23-33.
114. GALILEO DS, GRAY GE, OWENS GC, et al. Neurons and glia arise from a common progenitor in chicken optic tectum: demonstration with two retro-viruses and cell type-specific antibodies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 458-62.
115. GALLOWAY PG, ROESSMANN V. Anaplastic astrocytoma mimicking metastatic carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1986; 10: 728-732.
116. GANJU V, JENKINS RB, O'FALLON JR, et al. Prognostic factors in gliomas. *Cancer* 1994; 74(3): 920-927.
117. GARCIA DM, FULLING KH, MARKS JE. The value of radiation therapy in addition to surgery for astrocytomas of the adult cerebrum. *Cancer* 1995; 55: 919-927.
118. GASPAR L, ZAMORANO L, GARCIA L, et al. Malignant Gliomas: permanent iodine-125 implants. *Int J Radiat Oncol Prior Phys* 1994; 30(sup): 295.
119. GERDES J, LELLE R, PICKARTZ H, et al. Growth fractions in breast cancers determined in situ with monoclonal antibody Ki-67. *J Clin Pathol* 1986; 39: 977-980.
120. GERDES J, LEMKE H, BAISCH H, et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody. *J Immunol* 1984; 133: 1710-1715.
121. GERDES J, LI L, SCHLUETER C, et al. Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *Am J Pathol* 1991; 138: 867-873.
122. GERDES J, SCHWAB U, LEMKE H, et al. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983; 31: 13-20.

Int. J. Cancer; 31, 13-20 (1983)

PRODUCTION OF A MOUSE MONOCLONAL ANTIBODY REACTIVE WITH A HUMAN NUCLEAR ANTIGEN ASSOCIATED WITH CELL PROLIFERATION

Johannes GERDES¹, Ulrich SCHWAB², Hilmar LEMKE² and Harald STEIN^{1,2}

¹Institute of Pathology, Christian Albrecht University, Hospitalstrasse 42, D-2300 Kiel; and ²Institute of Biochemistry, Christian Albrecht University, Olshausenstrasse 40-60, D-2300 Kiel, Germany.

123. GERDES J, STEIN H, PIRELI S, et al. Prognostic relevance of tumor cell growth fraction in malignant non Hodgkin's Lymphomas. *Lancet* 1987; 2: 448-449.
124. GHERARDI R, BAUDRIMONT M, NGUYEN JP, et al. Monstro-cellular heavily lipidized malignant glioma. *Acta Neuropathol* 1986; 69: 28-32.
125. GHETTI B, TRUEX L, SAWYER B, et al. Exaggerated cyclin AMP accumulation and glial cell reaction in the cerebellum during Purkinje cell degeneration en PCD mutant mice. *J Neurosci Res* 1981; 6: 789-801.

126. GIANGASPERO F, BURGER P. Correlations between cytologic composition and biologic behavior in glioblastoma multiforme. A postmortem study of 50 cases. *Cancer* 1983;52: 2320-2333.
127. GIANGASPERO F, CHIECO P, LISIGNOLI G, et al. Comparison of cytologic composition with microfluorometric DNA analysis of the glioblastoma multiforme and anaplastic astrocytoma. *Cancer* 1987; 60: 59-65.
128. GLANTZ MJ, BURGER PC, HERNDON JE, et al. Influence of the type of surgery on the histologic diagnosis in patients with anaplastic gliomas. *Neurology* 1991; 41: 1741-1744.
129. GLEES P. Neuroglia: morphology and function. Charles C. Thomas ed. Springfield, 1955.
130. GOLDMAN JE. Both oligodendrocytes and astrocytes develop from progenitors in the subventricular zone of postnatal rat forebrain. *Neuron* 1993; 10: 201-212.
131. GOLDMAN CK, KIM J, WONG WL. Epidermal grow factor stimulates vascular endothelial growth factor production by human malignant glioma cells: a model of glioblastoma multiforme pathophysiology. *Mol Biol Cell* 1993; 4: 121-133.
132. GOSS CHM. Gray's anatomy. 20ed española. Barcelona: Salvat, 1976: 735-745, 846-847.
133. GOTTSCHALK J, MARTIN H, KRETSCHMER B, et al. Significance of immunohistochemistry in neuro-oncology. Demostration of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in extracranial metastases from primary brain tumors. *Zentralbl Allg Pathol* 1985; 130: 391-396.
134. GOTTSCHALK J, MARTIN H, BARZ Z, et al. Importance of immunohistochemistry for neuro oncology. Localization of factor VIII associated proteins and glial fibrillary acidic protein (GFAP) in angiomatous and sarcomatous tumors. *Zentralbl Allg Pathol* 1986; 131: 43-48.
135. GOTTSCHALK J, SZYMAS J. Significance of immunohistochemistry for neuro-oncology. Occurrence, localization and distribution of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in 820 tumors. *Zentralbl Allg Pathol* 1987; 133: 319-330.
136. GOULD VE, RORKE LB, JANSSON DS, et al. Primitive neuroectodermal tumors of the central nervous system expres neuroendocrine markers and may expres all classes of intermediate filaments. *Hum Pathol* 1990; 21: 245-252.
137. GRANT R, LIANG BC, PAGE MA, et al. Age influences chemotherapy response in astrocytomas. *Neurology* 1995; 45: 929-933.
138. GRANT JW, STEART PV, AGUZZY A, et al. Gliosarcma: An immunohistochemical study. *Acta Neuropathol* 1989; 79: 305-309.
139. GRANT JW, STEART PV, GALLAGHER PJ. Primitive neuroectodermal tumors of the cerebrum: a histological and immunohistochemical study of 10 cases. *Clin Neuropathol* 1988; 2: 228-233.
140. GREEN GM, HITCHON PW, SCHELPER RL, et al. Diagnostic yield in CT-guided stereotactic biopsy of gliomas. *J Neurosurg* 1989; 71: 494-497.
141. GREEN SB, SHAPIRO WR, BURGER PC, et al. A randomized trial of interstitial radiotherapy (RT) boost for newly diagnosed malignant glioma: Brain Tumor Cooperative Group (BTCG) trial 8701 (abstract). *Proc Am Soc Clin*

Oncol 1994; 13: 174.

142. GROGAN TM, LIPPMAN SM, SPIER CM, et al. Independent prognostic significance of a nuclear proliferation antigen in diffuse large cell lymphomas as determined by monoclonal antibody Ki-67. *Blood* 1988; 71: 1157-1160.

143. GUILLAUD P, DU MANOIR S, SEIGNEURIN D. Quantification and topographical description of Ki-67 antibody labelling during the cell cycle of normal fibroblastic (MRC-5) and mammary tumor cell lines (MCF-7). *Analyt Cell Pathol* 1989; 1: 25-39.

144. GUTIN PH, PRADOS MD, PHILLIPS TL, et al. External irradiation followed by an interstitial high activity iodine-125 implant «boost» in the initial treatment of malignant gliomas: NCOG study GG-82-2. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 21: 601-606.

145. HADDAD SF, MOORE SA, SCHELPER RL, et al. Smooth muscle cells can comprise the sarcomatous component of gliosarcomas. *J Neuropathol Exp Neurol* 1991; 50: 291(Abstr.).

146. HAMADA K, KURATSU J, SAITOH Y, et al. Expression of Tissue Factor Correlates with grade of Malignancy in Human Glioma. *Cancer* 1996; 77(9): 1877-83.

147. HART NM, EARLE KM. Primitive neuroectodermal tumours in children. *Cancer* 1973; 32: 172-188.

148. HAYES RL, KOSLOW M, HIESIGER EM, et al. Improved long term survival after intracavitary interleukin-2 lymphokine-activated killer cells for adults with recurrent malignant glioma. *Cancer* 1995; 76: 840-852.

149. HAYOSTEK C, SHAW EG, SCHEITHAUER BW, et al. Astrocytomas of the cerebellum: a comparative clinicopathologic study of pilocytic and diffuse astrocytomas. *Cancer* 1993; 72: 856-869.

150. HERPERS MJ, BUDKA H. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) in oligodendroglial tumors: gliofibrillary oligodendroglioma and transitional oligoastrocytoma as subtypes of oligodendroglioma. *Acta Neuropathol* 1984; 64: 265-272.

151. HERRIK MK, RUBINSTEIN LJ. The cytological differentiating potential of pineal parenchymal neoplasms (true pinealomas). A clinicopathological study of 28 tumours. *Brain* 1979; 102: 289-320.

152. HITCHCOCK CL. Ki-67 staining as a means to simplify analysis of tumor cell proliferation. *Am J Pathol* 1991; 94: 444-445.

153. HO DM, WONG TT, HSU CY, et al. MIB-1 labeling index in nonpilocytic astrocytoma of childhood: a study of 101 cases. *Cancer* 1998; 82: 2459-2466.

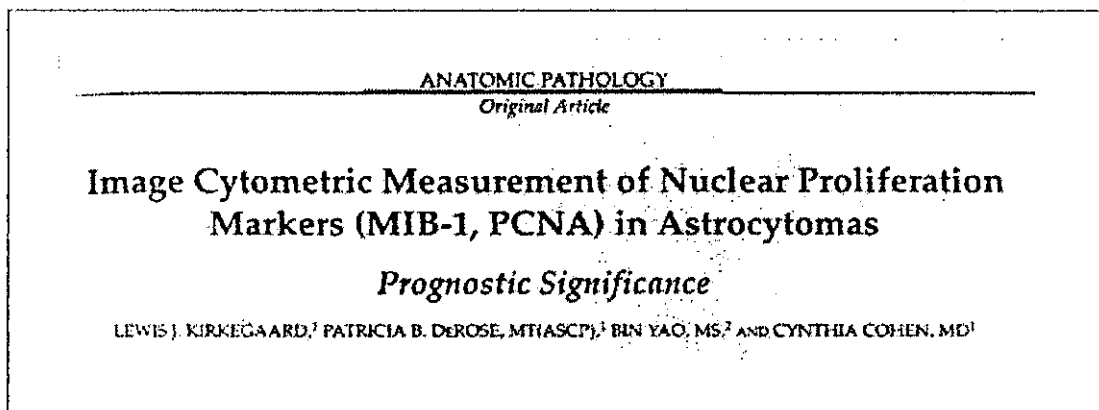
154. HOSHINO T, AHN D, PRADOS MD, et al. Prognostic significance of the proliferative potential of intracranial gliomas measured by bromodeoxyuridine labeling. *Int J Cancer* 1993; 53: 550-555.

155. HULETTE CM, DOWNEY BT, BURGER PC. Macrophage markers in diagnostic neuropathology. *Am J Surg Pathol* 1992; 16: 493-99.

156. IMPERATO JP, PALEOLOGOS NA, VICK NA. Effects of treatment on long term survivors with malignant astrocytomas. *Ann Neurol* 1990; 28: 818-822.

157. IWA N, YUTANI C, ISHIBASHI H, et al. Immunocytochemical demonstration of glial fibrillary acidic protein in imprint smears of human brain tumors. *Diagn Cytopathol* 1988; 4: 74-77.
158. IWAKI T, IWAKI A, MIYAZONO M, et al. Preferential expression of alpha B crystallin in astrocytic elements of neuroectodermal tumors. *Cancer* 1991; 68: 2230-2240.
159. JAMES CD, CARLBOM E, DUMANSKI JP, et al. Clonal genomic alterations in glioma malignancy stages. *Cancer Res* 1988; 48: 5546-5551.
160. JANZER RC, RAFF MC. Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Nature* 1987; 325: 253-257.
161. JASKULSKI D, GATTI G, TRAVALI S, et al. Regulation of the proliferation cell nuclear antigen cyclin and thymidins kinase mRNA levels by growth factors. *J Biol Chem* 1988; 263: 1075-1079.
162. JIMENEZ L. *Embriología humana*. 3ª ed. Barcelona: Espaxs, 1976: 195-200.
163. JOHNSON PC, HUNT SJ, DRAYER BP. Human cerebral gliomas: correlation of postmortem MR imaging and neuropathologic finding. *Radiology* 1989; 170: 211-217.
164. JUBELIRER SJ. A review of the treatment and survival rates of 138 patients with glioblastoma multiforme. *W V Med J* 1996; 92(4): 186-190.
165. JUEZ P, DIEZ FJ. *Probabilidad y estadística en Medicina*. Madrid: Díaz de Santos, 1996.
166. KADHIM HJ, GADISSEUX JF, EURARD P. Topographical and cytological evolution of the glial phase during prenatal development of the human brain: histochemical and electron microscopic study. *J Neuropathol Exp Neurol* 1988; 47: 166-88.
167. KAPLAN EL, MEIER P. Nonparametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 1958; 53: 457-481.
168. KARAMITOPOULOU E, PERENTES E, DIAMANTIS I, et al. Ki-67 immunoreactivity in human central nervous system tumors: a study with MIB-1 monoclonal antibody on archival material. *Acta Neuropathol* 1994; 87: 47-54.
169. KARAMITOPOULOU E, PERENTES E, MELACHIRNOV M, et al. Proliferating cell nuclear immunoreactivity in human central nervous system neoplasms. *Acta Neuropathol* 1993; 85: 316-322.
170. KARIM A, MAAT B, HATLEVOLI R, et al. A randomized trial on dose-response in radiation therapy of low grade cerebral glioma: European Organization For Research And Treatment Of Cancer (EORTC) Study 22844. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 1996; 36: 549-556.
171. KARNOFSKY DA, BURCHENAL JH. The clinical evaluation of chemotherapeutic agents in cancer. In McLeod CM ed. *Evaluation of chemotherapeutic agents*. New York: Columbia University Press, 1949: 191-205.
172. KATOH M, AIDA T, SUGIMOTO S, et al. Immunohistochemical analysis of giant cell glioblastoma. *Pathol Int* 1995; 45(4): 275-282.

173. KATTAR MM, KUPSKY WJ, SHIMOYAMA RK, et al. Clonal analysis of gliomas. *Human Pathol* 1997; 28(10): 1166-1179.
174. KEPES JJ, RUBINSTEIN LP, CHIANG H. The role of astrocytes in the formation of cartilage in gliomas. An immunohistochemical study of four cases. *Am J Pathol* 1984; 117: 471-483.
175. KEPES JJ, RUBINSTEIN LP, ENG LF. Pleomorphic xanthoastrocytoma: a distinctive meningocerebral glioma of young subjects with relatively favorable prognosis. A study of 12 cases. *Cancer* 1979; 44: 1839-52.
176. KERNOHAN JW, MABON RF, SVIEN HJ, et al. A simplified classification of the gliomas. *Proc Staff Meet Mayo Clin* 1949; 24: 71-75.
177. KEY G, BECKER HG, BARON B, et al. New Ki-67 equivalent murine monoclonal antibodies (MIB 1,3) generated against bacterially expressed parts of the KI-67 cDNA containing three 62 base pair repetitive elements encoding for the Ki-67 epitope. *Lab Invest* 1993; 68: 629-636.
178. KIM TS, HALLIDAY AL, HEDLEY-WHITE ET, et al. Correlates of survival and the Daumas-Duport grading system for astrocytomas. *J Neurosurg* 1991; 74: 27-37.
179. KIMURA T, BUDKA H, SOLER-FEDERSPIEL S. An immunocytochemical comparison of the glia associated proteins glial fibrillary acidic protein (GFAP) and S100 protein (S100 P) in human brain tumors. *Clin Neuropathol* 1986; 5: 21-27.
180. KIRKEGAARD JL, DE ROSE PB, YAO B, et al. Image cytometric measurement of nuclear proliferation markers (MIB1, PCNA) in Astrocytomas. Prognostic significance. *Am J Clin Pathol* 1998; 109: 69-74.



181. KISS R, DE WITTE O, DECAESTECKER C, et al. The combined determination of proliferative activity and cell density in the prognosis of adult patients with supratentorial high-grade astrocytic tumors. *Am J Clin Pathol* 1997; 107: 321-331.
182. KLEIHUES P, BURGER PC, SCHEITHAUER BW. The new WHO classification of brain tumors. *Brain Pathol* 1993; 3: 255-268.
183. KLEIHUES P, BURGER PC, SCHEITHAUER BW. Histologic typing of tumours of the central nervous system. 2nd Edition. Berlin: Springer-Verlag 1993: 11-30.

Brain Pathology 3: 255-268 (1993)

The New WHO Classification of Brain Tumours

Paul Kleihues¹, Peter C. Burger² and
Bernd W. Scheithauer³

¹Institute of Neuropathology, Department of Pathology,
University Hospital, CH-8091 Zurich, Switzerland

²Department of Pathology, The Johns Hopkins Hospital,
Baltimore, MD 21287, U.S.A.

³Department of Laboratory Medicine and Pathology, Mayo
Clinic, Rochester, MN 55305, U.S.A.

(CNS) neoplasms and, particularly, their
Considering that immunohistochemi-
yet available, the task was enormous.
result of the collaborative effort was qu-
as the "Blue Book" rapidly gained popu-
wide. Preparation of the second editi-
lished; was initiated during a confer-
held in Houston, Texas, in 1988 (2). Th-
still has the same scope, i.e., to propo-
nomenclature for CNS neoplasms that

184. KLEIHUES P, KEISLING M, JANZER RC. Morphological markers in neurooncology. *Curr Top Pathol* 1987; 77: 307-338.
185. KLEIHUES P, SOYLEMEZOGLU F, SCHAUBLE B, et al. Histopathology, classification and grading of gliomas. *Glia* 1995; 15: 211-221.
186. KLEINSCHMIDT-DEMASTERS DK. Diffuse bone marrow metastases from glioblastoma multiforme: the role of dural invasion. *Human Pathol* 1996; 27(2): 197-201.
187. KONDZIOLKA D, BERNSTEIN M, RESCH L, et al. Significance of hemorrhage into brain tumors: clinicopathological study. *J Neurosurg* 1987; 67: 852-857.
188. KORSHUNOV AG, SYCHEVA RV. Expression of glial fibrillary acidic protein and protein S-100 in cerebral astrocytic gliomas of varying degrees of malignancy (immunohistochemical study). *Arkh Pathol* 1995; 57: 30-38.
189. KOUNO M, KUMANISHI T, WASHIYAMA K, et al. An immunohistochemical study of cytokeratin and glial fibrillary acidic protein in choroid plexus papilloma. *Acta Neuropathol* 1988; 75: 317-320.
190. KRETH FW, WARNKE PC, SCHEREMET R, et al. Surgical resection and radiation therapy versus biopsy and radiation therapy in the treatment of glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* 1993; 78: 762-766.

J Neurosurg 78:762-766, 1993

Surgical resection and radiation therapy versus biopsy and radiation therapy in the treatment of glioblastoma multiforme

FRIEDRICH W. KRETH, M.D., PETER C. WARNKE, M.D., RUDOLF SCHEREMET, M.D., AND
CHRISTOPH B. OSTERTAG, M.D.

*Abteilung für Stereotaxie und Neuroonkologie und Allgemeine Neurochirurgie, Neurochirurgische
Universitätsklinik, Freiburg, Germany*

191. KROS JM, VAN EDEN GG, STEFANKO SE, et al. Prognostic implications of glial fibrillary acidic protein containing cell types in oligodendrogliomas. *Cancer* 1990; 66: 1204-1212.
192. KROS JM, VECHT CJ, STEFANKO SZ. The pleomorphic xanthoastrocytoma and its differential diagnosis. A study of five cases. *Hum Pathol* 1991; 22: 1128-1135.
193. KROUWER HGJ, DAVIS RL, SILVER P, et al. Gemistocytic astrocytomas: A reappraisal. *J Neurosurg* 1991; 74: 399-406.
194. KUBO O, TAJIKA Y, TOYAMA T, et al. Clinicopathological study of oligodendroglioma with special reference to immunohistochemical investigation. *No Shinkei Geka* 1988; 16: 1029-1035.
195. KUNZ J, GOTTSCHALK J, JANISCH W, et al. Cell proliferation and glial fibrillary acidic protein in brain tumors. *Acta Histochem* 1986; 80: 53-61.
196. KURPAD SN, WIKSTRAND CJ, BIGNER D. Immunobiology of malignant astrocytomas. *Seminars in oncology* 1994; 21(2): 149-161.
197. KYRITSIS AP, YUNG WK, LEEDS NE, et al. Multifocal cerebral gliomas associated with secondary malignancies. *Lancet* 1992; 339: 1229-1230.
198. LANDBERG G, TAN EM, ROOS G. Citometric multiparameter analysis of proliferating cell nuclear antigen cyclin and Ki-67 antigen: a new view of the cell cycle. *Exp Cell Res* 1980; 187: 111-118.
199. LANG FF, MILLER DC, KOSLOW M, et al. Pathways leading to glioblastoma multiforme: a molecular analysis of genetic alterations in 65 astrocytic tumors. *J Neurosurg* 1994; 81: 427-436.
200. LEON SP, FOLKERTH RD, BLACK PM. Microvessel density is a prognostic indicator for patients with astroglial brain tumors. *Cancer* 1996; 77(2): 362-372.
201. LEVIN VA, PRADOS MR, WARA WM, et al. Radiation therapy and bromodeoxyuridine chemotherapy followed by procarbazine, lomustine, and vincristine for the treatment of anaplastic gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 32: 75-83.
202. LEVIN VA, WARA WM, GUTIN PH, et al. Initial analysis of NCOG 6G82-1: bromodeoxyuridine (BUdR) during irradiation followed by CCNU, procarbazine, and vincristine (PCV) chemotherapy for malignant gliomas (Abstract). *Proc Am Soc Clin Oncol* 1990; 9: 91(355).
203. LIEBERMAN AN, FOO SH, RANSOHOFF J, et al. Long term survival among patients with malignant brain tumors. *Neurosurgery* 1982; 10: 450-453.
204. LITTMAN P, JARRETT P, BILANIUK LT, et al. Pediatric brain stem gliomas. *Cancer* 1980; 45: 2787-92.
205. LIWNICZ BH, RUBINSTEIN LJ. The pathways of extraneural spread in metastasizing gliomas. A report of three cases and critical review of the literature. *Human Pathol* 1979; 10: 453-467.
206. LOEFFLER JS, ALEXANDER E, SHEA WM, et al. Radiosurgery as part of the initial management of patients with malignant glioma. *J Clin Oncol* 1992; 10: 1379-85.

207. LOFTUS CM, COPELAND BR, CARMEL PW. Cystic supratentorial gliomas: Natural history and evaluation of modes of surgical therapy. *Neurosurgery* 1985; 17: 19-24.
208. LOUIS DN, EDGERTON S, THOR AD et al. Proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 immunohistochemistry in brain tumors: a comparative study. *Acta Neuropathol* 1991; 81: 675-679.
209. LUDWIN SK, KOSER JC, ENG LF. The topographical distribution of S100 and GFA proteins in the adult rat brain: an immunohistochemical study using horse radish peroxidase labelled antibodies. *J Comp Neurol* 1976; 165: 197-208.
210. LYNCH DA, CLARKE AMT, JACKSON P, et al. Comparison of labelling by bromodeoxyuridine, MIB-1, and proliferating cell nuclear antigen in gastric mucosal biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1994; 47: 122-125.
211. MAHALEY SM, METTLIN C, NATARAJAN N, et al. National survey of patterns of care for brain tumor patients. *J Neurosurg* 1989; 71: 826-836.
212. MANTEL N. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep* 1966; 50: 163-170.
213. MARGETTS JC, KOLYAN-RAMAN UP. Giant called glioblastoma of brain. A clinico-pathological and radiological study of ten cases (including immunochemistry and ultrastructure). *Cancer* 1989; 63: 524-531.
214. MARTOS JA. Estudio inmunohistoquímico de los tumores neuroectodérmicos del Sistema Nervioso Central. Tesis Doctoral. Madrid: Universidad Complutense, 1993.
215. MARUNO M, YOSHIMINE T, USHIO Y, et al. Immunohistochemical study of human brain tumors with vimentin and astroprotein (GFAP). *No To Shinkei* 1987; 39: 579-585.
216. MASCIOPINTO JE, LEVIN AB, MEHTA MP, et al. Stereotactic radiosurgery for glioblastoma: a final report of 31 patients. *J Neurosurg* 1995; 82: 530-535.
217. MASTRONARDI L, FERRANTE L, LUNARDI P, et al. Association between neuroepithelial tumor and multiple intestinal polyposis (Turcot's syndrome): report of a case and critical analysis of the literature. *Neurosurgery* 1991; 28: 449-452.
218. MAZZONA D, MAGRO G, LUCENTI A, et al. Report of a case of congenital glioblastoma multiforme: an immunohistochemical study. *Childs Nerv Syst* 1995; 11(5): 311-313.
219. Mc CORMICK D, CHONG H, HOBBS C, et al. Detection of the Ki-67 antigen in fixed and waxembedded section with the monoclonal antibody MIB-1. *Histopathology* 1993; 22:355-360.
220. Mc CORMICK D, YU C, HOBBS C, et al. The prevalence of antibody concentration to the immunohistological quantification of cell proliferation-associated antigen. *Histopathology* 1993; 22: 543-547
221. Mc KEOWN MJ, RAMSAY DA. Classification of astrocytomas and malignant astrocytomas by principal components analysis and neural net. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996; 55(12): 1238-1245.
222. MECKEL DE, Mc GUIRE WL. Ploidy, proliferative activity and prognosis DNA flow cytometry of solid tumors.

Cancer 1990; 65: 1194-1197.

223. MEHTA MP. Glioblastoma multiforme: «Who should receive stereotactic boost therapy?». *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 30: 746.

224. MEIS JM, MARTZ KL, NELSON JS. Mixed glioblastoma and sarcoma. A clinicopathologic study of 26 Radiation Therapy Oncology Group cases. *Cancer* 1991; 67: 2342-49.

225. MENESES ACO, KEPES JJ, STERNBERG NH. Astrocytic differentiation of neoplastic oligodendrocytes. *J Neuropathol Exp Neurol* 1982; 41: 368.

226. MILLER LL, OSTROW PT, CHAU R. Characterization of gliosarcomas by image analysis of superimposed serial sections. *J Neuropathol Exp Neurol* 1991; 50: 365(Abstr.).

227. MISSON JP, TAKAHASHI T, CAVINESS VS Jr. Ontogeny of radial and other astroglial cell in murine cerebral cortex. *Glia* 1991; 4: 138-148.

228. MITTLER MA, WALTERS BC, STOPA EG. Observer realibility in histological grading of astrocytoma stereotactic biopsies. *J Neurosurg* 1996; 85: 1091-1094.

229. MONTINE TJ, VANDERSTEENHOVEN JJ, AGUZZI A, et al. Prognostic significance of Ki-67 proliferation index in supratentorial fibrillary astrocytic neoplasms. *Neurosurgery* 1994; 34(4): 674-679.

EXPERIMENTAL STUDIES

**Prognostic Significance of Ki-67 Proliferation Index in
Supratentorial Fibrillary Astrocytic Neoplasms**

Thomas J. Montine, M.D., Ph.D.,
Jacob J. Vandersteenhoven, M.D., Ph.D.,
Alasandra Aguzzi, M.D., Orst B. Boyko, M.D.,
Richard K. Dodge, M.S., Billie-Jo Kerns, B.S.,
Peter C. Burger, M.D.

Departments of Pathology (TJM, JJV, BJK, PCB), Radiology (OBB), and
Biostatistics (RKD), Duke University Medical Center, Durham, North Carolina,
and Dipartimento di Patologia Umana ed Ereditaria,
Università di Pavia (AA), Pavia, Italy

230. MOORE KL. *The developing human. Clinically oriented embryology.* 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1988.

231. MORIOKA T, BABA T, BLACK K, et al. Immunophenotypic analysis of infiltrating leucocytes in an experimental rat glioma. *Acta Neuropathol* 1992; 83: 590-597.

232. MORK SJ, RUBINSTEIN LJ, KEPES JJ. Patterns of epithelial metaplasia in malignant gliomas. Papillary formations mimicking medulloepithelioma. *J Neuropathol Exp Neurol* 1988; 47: 93-100.

233. MORRISON RS, DE VELLIS J, ENG LF, et al. Hormones and growth factors induce the synthesis of glial fibrillary acidic protein in rat brain astrocytes (Abstract). *Trans Amer Soc Neurosci* 1984; 10: 457.

234. MULLER W, AFRA D, SCHRODER R. Supratentorial recurrences of gliomas: Morphological studies in relation to time intervals with 544 astrocytomas. *Acta Neurochir* 1977; 37: 75-91.
235. NAKAGAWA Y, PERENTES E, RUBINSTEIN LJ. Immuno-histochemical characterization of oligodendrogliomas: an analysis of multiple markers. *Acta Neuropathol* 1986; 72: 15-22.
236. NAKAMURA Y, BECKER LE. Subependymal giant cell tumor: astrocytic or neuronal?. *Acta Neuropathol* 1983; 60: 271-277.
237. NAKAMURA M, KONISHI N, TSUNODA S, et al. Retinoblastoma protein expression and MIB1 correlate with survival of patients with Malignant Astrocytoma. *Cancer* 1997; 80: 242-249.
238. NELSON DF, CURRAN WJ, SCOTT C, et al. Hiperfractionated radiation therapy and bis-chlorethyl nitrosourea in the treatment of malignant glioma. Possible advantage observed at 72.0 Gy in 1.2 Gy BID fractions: report of the RTOG protocol 8302. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1993; 25: 193-207.
239. NELSON JS, TSUKADA Y, SCHOENFELD D, et al. Necrosis as a prognostic criterion in malignant supratentorial astrocytic gliomas. *Cancer* 1983; 52: 550-554.

*Necrosis as a Prognostic Criterion in Malignant
Supratentorial, Astrocytic Gliomas*

J. S. NELSON, MD,* Y. TSUKADA, MD,† D. SCHOENFELD, PhD,‡ K. FULLING, MD,*
J. LAMARCHE, MD,§ AND N. PERESS, MD||

240. NETSKY MG, AUGUST B, FOWLER W. The longevity of patients with glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* 1950; 7: 261-269.
241. NOBACK CH, DEMAREST R. Sistema Nervioso Humano. Fundamentos de Neurobiología. Ed esp. Naucalpan de Juarez: Mc Graw-Hill, 1980: 18.
242. NOBLE M. Points of controversy in the 0-2A lineage: clocks and type-2 astrocytes. *Glia* 1991; 4: 157-164.
243. OBWEGESER A, ORTLER M, SEIWALD M, et al. Therapy of glioblastoma multiforme: a cumulative experience of 10 years. *Acta Neurochir* 1995; 137(1-2): 29-33.
244. OHNISHI R, FUKUOKA T, FURUTA T, et al. Immuno-histochemical study of S100 protein in the normal human brain and glioblastoma. *No To Shintei* 1985; 37: 1145-1154.
245. ONDA K, DAVIS RL, SHIBUYA M, et al. Correlation between the bromodeoxyuridine labeling index and the MIB-1 and Ki-67 proliferating cell indices in cerebral gliomas. *Cancer* 1994; 74(7): 1921-1926.
246. ONO Y, TAMIYA T, ICHIKAWA T, et al. Malignant astrocytomas with homozygous CDKN2/p16 gene deletions

have higher Ki-67 proliferation indices. *J Neuropathol Exp Neurol* 1996; 55: 1026-1031.

247. OUDARD S, POIRSON F, MICCOLI L, et al. Mitochondria-bound hexokinase as target for therapy of malignant gliomas. *Int J Cancer* 1995; 62: 216-222.

248. PACKER RJ, BOYETT JM, ZIMMERMAN RA, et al. Outcome of children with brain stem gliomas after treatment with 7800 cGy of hyperfractionated radiotherapy. *Cancer* 1994; 74: 1827-1834.

249. PAHAPILL PA, RAMSAY DA, PHIL D, et al. Pleomorphic xanthoastrocitoma: case report and analysis of the literature concerning the efficacy of resection and the significance of necrosis. *Neurosurgery* 1996; 38: 822-829.

250. PASQUIER B, KOJDER I, LABAT F, et al. Pleomorphic xanthoastrocytoma of young subjects. A report of two cases with discordant courses and review of literature. *Ann Pathol* 1985; 5: 29-43.

251. PATSOURIS E, STOCKER U, KALLMEYER V, et al. Relationship between Ki-67 positive cells, growth rate, and histologic type of human intracranial tumors. *Anticancer Res* 1988; 8: 537-544.

252. PAULUS W, PEIFFER J. Intratumoral histologic heterogeneity of gliomas: a quantitative study. *Cancer* 1989; 64: 442-447.

253. PETO R, PETO J. Asymptotically efficient rank invariant test procedures. *J R Stat Soc (A)* 1972; 135: 185-198.

254. PIEPMEIER JM. Observations on the current treatment of low grade astrocytic tumors of the cerebral hemispheres. *J Neurosurg* 1987; 67: 177-181.

255. PIGOTT TJ, LOWE JS, PALMER J. Statistical modelling in analysis of prognosis in glioblastoma multiforme: a study of clinical variables and Ki-67 index. *Br J Neurosurg* 1991; 5: 61-66.

256. PODSKALNY GD, HALLER JS, EMRICH JF, et al. Report of congenital anaplastic astrocytoma discovered in a newborn. *J Child Neurol* 1993; 8: 389-394.

257. POLAK M. Blastomas del SNC y periférico. *Patología y ordenación histogenética*. López libreros eds. Buenos Aires, 1966.

258. POLLACK IF, CAMPBELL JW, HAMILTON RL, et al. Proliferation index as a predictor of prognosis in malignant gliomas of childhood. *Cancer* 1997; 79: 849-856.

259. PRADOS MD, GUTIN PH, PHILLIPS TL, et al. Highly anaplastic astrocytoma: a review of 357 patients treated between 1977 and 1989. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1992; 23: 3-8.

260. RAFF MC, MILLER RH, NOBLE M. A glial progenitor cell that develops in vitro into an astrocyte or an oligodendrocyte depending on culture medium. *Nature* 1983; 303: 390-396.

261. RAJAN B, ROSS G, LIM CC, et al. Survival in patients with recurrent glioma as a measure of treatment efficacy: prognostic factors following nitrosourea chemotherapy. *Eur J Cancer* 1994; 30A: 1809-1815.

262. RAUTIAINEN E, HAAPASALO H, SALLINEN P, et al. Histone mRNA in situ hybridization in astrocytomas: a comparison with PCNA, MIB1 and mitoses in paraffin embedded material. *Histopathology* 1998; 32: 43-50.

263. REINFENBERGER G, SZYMAS J, WECHSLER W. Differential expresion of glial and neuronal associated antigens in human tumors of the central and peripheral nervous system. *Acta Neuropathol* 1987; 74: 105-123.
264. REVESZ T, SCARAVILLI F, COUTINHO L, et al. Reliability of histological diagnosis including grading in gliomas biopsied by image-guided stereotactic technique. *Brain* 1993; 116: 781-793.
265. RINGERTZ N. Grading of gliomas. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1950; 27: 51-64.
266. RIO-HORTEGA P. La microglía y su transformación en células en bastoncito. *Trab del Lab de Invest Biol* 1920.
267. RIO-HORTEGA P. Estructura y sistematización de los gliomas y paragliomas. *Arch Esp Oncol* 1932; 2: 411-678.
268. ROGERS S, WELLS R, RECHSTEINER M. Amino acid sequences common to rapidly degraded proteins: the PEST hypothesis. *Science* 1986; 234: 364-367.
269. RORKE LB, GILLES FH, DAVIS RL, et al. Revision of the World Health Organization classification of brain tumors for childhood brain tumors. *Cancer* 1985; 56: 1869-1886.
270. ROSELLI R, IACOANGELI M, CARAPPELLA CM, et al. The progression in astrocytic tumors. *J Neurosurg Sci* 1990; 34: 199-204.
271. ROSENBLUM MK, ERLANDSON RA, BUDZILOVICH GN. The lipid rich glioblastoma. *Am J Surg Pathol* 1991; 15: 925-934.
272. ROYDS JA, IRONSIDE JW, TAYLOR CB, et al. An immuno-histochemical study of glial and neuronal markers in primary neoplasms of the central nervous system. *Acta Neuropathol* 1986; 70: 320-326.
273. ROZENTAL JM, COHEN JD, MEHTA MP, et al. Acute changes in glucose uptake after treatment: the effects of carmustine (BCNU) on human glioblastoma multiforme. *J Neurooncol* 1993; 15: 57-66.
274. RUBINSTEIN LJ. Tumors of the Central Nervous System. *Atlas of Tumor Pathology, 2nd Series, Fascicle 6(supl.)*. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1982: 21-30.
275. RUBINSTEIN LJ. Embryonal central neuroepithelial tumors and their differentiating potential. *J Neurosurg* 1985; 62: 795-805.

J Neurosurg 62:795-805, 1985

Review Article

Embryonal central neuroepithelial tumors and their differentiating potential

A cytogenetic view of a complex neuro-oncological problem.

LUCIEN J. RUBINSTEIN, M.D.

Division of Neuropathology, Department of Pathology, University of Virginia School of Medicine, Charlottesville, Virginia

276. RUBINSTEIN LJ. Contribution of immunohistochemical methods to the study of central nervous system tumors. *Ann Pathol* 1986; 6: 157-163.
277. RUBINSTEIN LJ, BRUCHER JM. Focal ependymal differentiation in choroid plexus papillomas. An immunoperoxidase study. *Acta Neuropathol* 1981; 53: 29-33.
278. RUBINSTEIN LJ, HERMAN MM. The astroblastoma and its possible cytogenic relationship to the tanicyte. *Acta Neuropathol* 1989; 78: 472-483.
279. RUBINSTEIN LJ, HERMAN MM, HANBERY JW. The relationship between differentiating medulloblastoma and dedifferentiating diffuse cerebellar astrocytoma. Light, electron microscopic, tissue, and organ culture observations. *Cancer* 1974; 33: 675-690.
280. RUBIO E, CALVO T, RUBIO E, et al. Bioestadística. Colección monografías didácticas nº6. 1ª ed. Zaragoza: Universidad de Zaragoza, 1992.
281. RUSSELL DS, RUBINSTEIN LJ. Pathology of tumours of the Nervous System. 5nd ed. Baltimore: Williams and Wilkins, 1989.
282. SALCMAN M. Survival in glioblastoma: Historical perspective. *Neurosurgery* 1980; 7: 435-439.
283. SALCMAN M. Epidemiology and factors affecting survival. En: APUZZO MLJ (ed). *Malignant Cerebral Glioma*. Park Ridge IL, AANS 1990: 95-110.
284. SALCMAN M, SCHOLTZ H, KAPLAN RS, et al. Long term survival in patients with malignant astrocytoma. *Neurosurgery* 1994; 34(2): 213-219.
285. SALLINEN PK, HAAPASALO HK, VISAKORPI T, et al. Prognostication of astrocytoma patient survival by Ki-67(MIB1), PCNA, and S-phase fraction using archival paraffin-embedded samples. *J Pathol* 1994; 174: 275-282.
286. SALMON I, DEWITTE O, PASTEELS JL, et al. Prognostic scoring in adult astrocytic tumors using age, histopathological grade and DNA histogram type. *J Neurosurg* 1994; 80: 877-883.
287. SALMON I, KISS R. Relationship between proliferative activity and ploidy level in a series of 530 human brain tumors, including astrocytomas, meningiomas, schwannomas, and metastases. *Human Pathol* 1993; 24: 329-335.
288. SALMON I, KISS R, DEWITTE O, et al. Histopathologic grading and DNA ploidy in relation to survival among 206 adult astrocytic tumor patients. *Cancer* 1992; 70: 538-546.
289. SALVATI M, ARTICO M, CARUSO R, et al. A report on radiation induced gliomas. *Cancer* 1991; 67: 77-82.
290. SARNAT HB. Regional differentiation of the human fetal ependyma: immunocytochemical markers. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992; 51: 58-75.
291. SASAKI K, MATSUNARA K, TSUJI T, et al. Relationship between labelin indices of Ki-67 and BrdU in human malignant tumors. *Cancer* 1988; 62: 989-993.
292. SASAKI K, MURAKAMI T, KAWASAKI M, et al. The cell cycle associated change of the Ki-67 reactive nuclear

antigen expression. *J Cell Physiol* 1987; 133: 579-584.

293. SAWAMURA Y, HOSOKAWA M, KUPPNER M, et al. Antitumor activity and surface phenotypes of human glioma infiltrating lymphocytes after in vitro expansion in the presence of IL-2. *Cancer Res* 1989; 49: 1843-1849.

294. SCHACHNER M, HEDLEY-WHYTE ET, HSU DW, et al. Ultrastructural localization of glial fibrillary acidic protein in mouse cerebellum by immunoperoxidase labeling. *J Cell Biol* 1977; 75: 60-67.

295. SCHERER HJ. Le problème des gliomes multiples. *Rev Neurol* 1936; 65: 178-179.

296. SCHERER HJ. The forms of growth in gliomas and their practical significance. *Brain* 1940; 63: 1-35.

297. SCHIFFER D. Astrocitomas cerebelosos y de la línea media. *Patología* 1990; 23(4): 281-282.

298. SCHIFFER D, CHIO A, GIORDANA MT, et al. Prognostic value of histology factors in adult cerebral astrocytoma. *Cancer* 1988; 1: 1386-93.

299. SCHIFFER D, GIORDANA MT, GERMANO I, et al. Anaplasia and heterogeneity of GFAP expresion in gliomas. *Tumori* 1986; 72: 163-170.

300. SCHIFFER D, GIORDANA MT, MAURO A, et al. Immunochemical demonstration of vimentin in human cerebral tumors. *Acta Neuropathol* 1986; 70: 209-219.

301. SCHLINGEMANN RO, OOSTERWIJK E, WESSELING P, et al. Aminopeptidase a is a constituent of activated pericytes in angiogenesis. *J Pathol* 1996; 179: 436-442.

302. SCHMITT HP. Rapid anaplastic transformation of gliomas in childhood. *Neuropediatrics* 1983; 14: 137-143.

303. SCHONK DM, KULPERS HJH, VAN DRUNEN E, et al. Assignment of the gene(s) involved in the expresion of the proliferation related Ki-67 antigen to human cromosome 10. *Human Genet* 1989; 83: 297-299.

304. SCHREIBER D. Ependimomas. *Patología* 1990; 23: 287-289.

305. SCHRODER R, BIEN K, KOTT R, et al. The relationship between Ki-67 labeling and mitotic index in gliomas and meningiomas: demonstration of the variability of the intermitotic cycle time. *Acta Neuropathol* 1991; 82: 389-394.

306. SCOTT CS, FEY SL, LARSEN PM. Cytoplasmic Ki-67 expresion: a reply to Dario Campana, Elaine Coustan-Smith and George Janossy. *Leukemia* 1989; 3: 397.

307. SCOTT RJ, HALL PA, HALDANE JS, et al. A comparison of immunohistochemical markers of cell proliferation with experimentally determined growth fraction. *J Pathol* 1991; 165: 173-178.

308. SCOTT CB, NELSON JS, FARNAN NC, et al. Central pathology review in clinical trials for patients with malignant glioma. *Cancer* 1995; 76: 307-313.

309. SHAPIRO S, MEALEY, SARTORIUS C. Radiation induced malignant glioma. *J Neurosurg* 1989; 71: 77-82.

310. SHAW EG, SCHEITHAUER B, O'FALLON J, et al. Oligodendrogliomas: the Mayo Clinic experience. *J Neurosurg*

1992; 76: 428-434.

311. SHAW EG, SCHEITHAUER B, O'FALLON J, et al. Mixed oligoastrocytomas: a survival and prognostic factor analysis. *Neurosurgery* 1994; 34: 577-582.

312. SHI SR, KEY ME, KALRA KL. Antigen retrieval in formalin fixed, paraffin embedded tissues: an enhancement method for immuno-histochemical staining based on microwave oven heating of tissue section. *J Histochem Cytochem* 1991; 39: 741-748.

313. SHRIEVE DC, ALEXANDER E, WEN PY, et al. Comparison of stereotactic radiosurgery and brachytherapy in the treatment of recurrent glioblastoma multiforme. *Neurosurgery* 1995;36: 275-284.

314. SIDMAN RL, RAKIC P. Neuronal migration with special reference to developing human brain: a review. *Brain Res* 1973; 62: 1-35.

315. SIDRANSKY D, MIKKELSEN T, SCHWECHHEIMER K, et al. Clonal expansion of p53 mutant cells is associated with brain tumor progression. *Nature* 1992; 355: 846-847.

316. SMITH DR, HARDMAN JM, EARLE KM. Metastasizing neuroectodermal tumors of the central nervous system. *J Neurosurg* 1969; 31: 50-58.

317. SOBEL RA, TRICE JE, NIELSEN SL, et al. Pinealoblastoma with ganglionic differentiation. Report of two cases. *Acta Neuropathol* 1981; 55: 243-246.

318. SOFFIETTI R, CHIO A, GIORDANA MT, et al. Prognostic factors in well differentiated cerebral astrocytomas in the adult. *Neurosurg* 1989; 24(5): 686-692.

319. SORENSEN SS, MULVIHULL JJ, NIELSEN A. Long-term follow-up on von Recklinghausen neurofibromatosis: survival and malignant neoplasms. *N Engl J Med* 1986; 314: 1010-1015.

320. SPICER CC. Test reduction: II-Bayes's theorem and the evaluation of tests. *Br Med J* 1980; 281: 592.

321. SPRENT P. Applied nonparametric statistical methods. London: Chapman and Hall, 1993.

322. STAN AC, WALTER GF, PIETSCH T. Immunolocalization of granulocyte-colony-stimulating factor in human glial and primitive neuroectodermal tumors. *Int J Cancer* 1994; 57: 306-312.

323. STAVROU D, BISE K, GROENEVELD J, et al. Antigenic heterogeneity of human brain tumours defined by monoclonal antibodies. *Anticancer Res* 1989; 9: 1489-1496.

324. STEA B, ROSSMAN K, KITTELSON J, et al. Interstitial irradiation versus interstitial thermoradiotherapy for supratentorial malignant gliomas: a comparative survival analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1994; 30: 591-600.

325. STEVENS A, LOWE J. Texto y atlas de histología. ed española. Barcelona: Doyma, 1993: 213-216.

326. STRAGLIOTTO G, FANKHAUSER H. Biodistribution of boron sulphhydryl (BSH) neutron capture therapy in patients with intracranial tumors. *Neurosurgery* 1995; 36: 285-293.

327. STROMMER K, HAMOU MF, DIGGELMAN H, et al. Cellular and tumoural heterogeneity of EGFR gene amplification in human malignant gliomas. *Acta Neurochir* 1990; 107: 82-87.
328. SVIEN HJ, MABON RF, KERNOHAN JW, et al. Astrocytomas. *Proc Staff Meet Mayo Clin* 1949; 24: 54-64.
329. SZUWART U, BENNEFELD H, BEHR H. Classification of gliomas and medulloblastomas using the new TNM system for cerebral tumors. *Neurosurg Rev* 1989; 12: 233-238.
330. TANAKA J, KAWAKAMI S, HASHIMOTO K. Immunocytochemistry of subependymal giant cell astrocytoma associated with tuberous sclerosis. *No To Hattatsu* 1989; 21: 222-226.
331. TARATUTO AL, MOLINA H, MONGES J. Choroid plexus tumors in infancy and childhood. Focal ependymal differentiation. An immunoperoxidase study. *Acta Neuropathol* 1983; 59: 304-308.
332. TESTUT A, LATARJET A. Anatomía humana, vol II. 9ª ed. española. Barcelona: Salvat, 1976: 607-610, 914-919.
333. THEUNISSEN P, BLAAUW G. Proliferating cell nuclear antigen immunostaining and survival in cerebral astrocytoma. *Histopathology* 1993; 23: 75-79.
334. TOOTH HH. Some observations on the growth and survival period of intracranial tumors, based on the records of 500 cases, with special reference to the pathology of the gliomata. *Brain* 1912; 35: 61-108.
335. TOSCHIL, BRAVO R. Changes in cyclin proliferating cell nuclear antigen distribution during DNA repair synthesis. *J Cell Biol* 1988; 107: 1623-1628.
336. TOVI M, HARTMAN M, LILJA A, et al. MR Imaging in cerebral gliomas. *Acta Radiol* 1994; 35: 495-505.
337. TREMBLAY GF, LEE VM, TROJANOWSKI JQ. Expression of vimentin, glial filament, and neurofilament proteins in primitive childhood brain tumors. A comparative immunoblot and immunoperoxidase study. *Acta Neuropathol* 1985; 68: 239-244.
338. TRIVIÑO-LOPEZ A, CARBAJO-PEREZ E, LOPEZ-MUÑOZ A, et al. El antígeno de proliferación celular. Respuestas complejas a un apelativo simple. *Patología* 1994; 27: 343-347.
339. TSANACLIS AM, ROBERT F, MICHAUD J, et al. The cycling pool of cells within brain tumors: In situ cytokinetics using the monoclonal antibody Ki-67. *Can J Neurol Sci* 1991; 18: 12-17.
340. TUBIANA M, COURDI A. Cell proliferation kinetics in human solid tumors: relation to probability of metastatic dissemination and long-term survival. *Radiotherapy Oncol* 1989; 15: 1-18.
341. UICC (Union Internacional Contra el Cáncer). TNM Atlas. Illustrated guide to the TNM/pTNM Classification of malignant tumours. 3th ed, 2nd rev. Berlin: Springer-Verlag, 1992: 318-321.
342. USHIO Y, KOCHI M. Prognostic factors in malignant gliomas. *Gan To Kagaku Ryoho* 1996; 23: 643-648.
343. VAN BOCKSTAELE DR, LAN J, SNOECK HW, et al. Aberrant Ki-67 expression in normal bone marrow revealed by multiparameter flow cytometric analysis. *Cytometry* 1991; 12: 50-63.

344. VAN DEIRENDOCK JH, KEIJZER R, CORNELIS JH. Nuclear distribution of the Ki-67 antigen during the cell cycle comparison with the growth fraction in human breast cancer cells. *Cancer Res* 1989; 49: 2999-3006.
345. VAN TASSEL, LEE YY, BRUNER JM. Synchronous and metachronous malignant gliomas: CT findings. *Am J Neuroradiol* 1988; 9: 725-732.
346. VANDERBERG SR. Current diagnostic concepts of astrocytic tumors. *J Neuropathol Exp Neurol* 1992; 51: 644-657.
347. VAQUERO J, COCA S, OYA S, et al. Presence and significance of NK-cells in Glioblastomas. *J Neurosurg* 1989; 70: 728-731.
348. VELASCO ME, DAHL D, ROESSMANN V, et al. Immuno-histochemical localization of glial fibrillary acidic protein in human glial neoplasms. *Cancer* 1980; 45: 484-494.
349. VEMATSU Y, ROJAS-CORONA RR, LLENA JF, et al. Distribution of epithelial membrane antigen in normal and neoplastic human ependyma. *Acta Neuropathol* 1989; 78: 325-328.
350. VENTER DJ, THOMAS DGT. Multiple sequential molecular abnormalities in the evolution of human gliomas. *Br J Cancer* 1991; 63: 753-757.
351. VERHIEJEN R, KUIJPERS HJH, SCHLINGEMANN RO, et al. Ki-67 detects a nuclear matrix associated proliferation related antigen intracellular localization during interphase. *J Cell Science* 1989; 92: 123-130.
352. VERHIEJEN R, KUIJPERS HJH, VAN DRIEL R, et al. Ki-67 detects a nuclear matrix associated proliferation related antigen. Localization in mitotic cells and association with chromosomes. *J Cell Sc* 1989; 92: 531-540.
353. VERHIEJEN R, KUIJPERS HJH, SCHLINGEMANN RO, et al. Ki-67 detects a nuclear matrix associated proliferation related antigen. Intracellular localization during interphase. *J Cell Sc* 1989; 92: 123-130.
354. VIAL'TSEVA I, BUKHVALOV IB, VASILOV RG. Differential immunohistochemical diagnosis of tumors of the human central nervous system using monoclonal antibodies. *Arkh Pathol* 1996; 58(2): 28-32.
355. VITOLO D, PARADISO P, UCCINI S, et al. Expression of adhesion molecules and extracellular matrix proteins in glioblastomas: relation to angiogenesis and spread. *Histopathology* 1996; 28: 521-528.

Histopathology 1996; 28: 521-528

Expression of adhesion molecules and extracellular matrix proteins in glioblastomas: relation to angiogenesis and spread

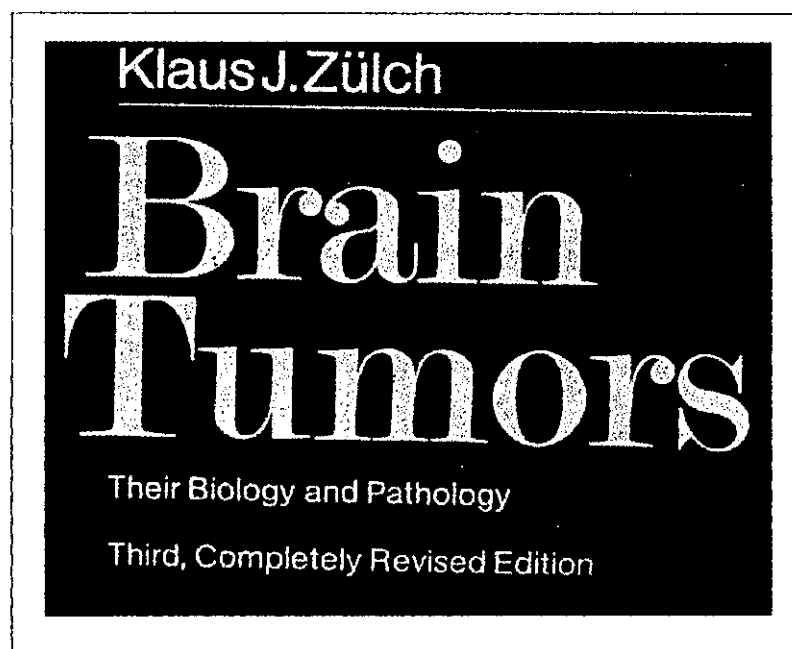
D.VITOLO, P.PARADISO, S.UCCINI, L.P.RUCO & C.D.BARONI

Second Chair of Pathological Anatomy and Immunopathology Section, Department of Experimental Medicine and Pathology, University "La Sapienza" Roma, Italy

356. von DEIMLING A, EIBL RH, OHGAKI H, et al. p53 mutations are associated with 17p allelic loss in grade II and III astrocytoma. *Cancer Res* 1992; 52: 2987-2990.

357. von DEIMLING A, von AMMON K, SCHOENFELD D, et al. Subsets of glioblastoma multiforme defined by molecular genetic analysis. *Brain Pathol* 1993; 3: 19-26.
358. von DEIMLING A, LOUIS DN, WIESTLER OD. Molecular pathways in the formation of gliomas. *Glia* 1995; 15: 328-338.
359. WAKAI S, YAMAKAWA K, MANAKA S, et al. Spontaneous intracranial hemorrhage caused by brain tumor: its incidence and clinical significance. *Neurosurgery* 1982; 10: 437-444.
360. WAKIMOTO H, AOYAGI M, NAKAYAMA T, et al. Prognostic significance of Ki-67 labeling indices obtained using MIB-1 monoclonal antibody in patients with supratentorial astrocytomas. *Cancer* 1996; 77(2): 373-380.
361. WALKER MD, GREEN SB, BYAR DP, et al. Randomized comparisons of radiotherapy and nitrosoureas for the treatment of malignant glioma after surgery. *N Engl J Med* 1980; 303: 1323-1389.
362. WATANABE K, TACHIBANA O, YONEKAWA Y, et al. Role of gemistocytes in astrocytoma progression. *Lab Invest* 1997; 76: 277-284.
363. WEIR B. The relative significance of factors affecting postoperative survival in astrocytomas grades 3 and 4. *J Neurosurg* 1973; 38: 448-452.
364. WERNER-WASIK M, SCOTT CHB, NELSON DF, et al. Final report of a Phase I/II Trial of hyperfractionated and accelerated hyperfractionated radiation therapy with Carmustine for adults with supratentorial malignant gliomas. *Cancer* 1996; 77: 1535-1543.
365. WERSTO RP, HERZ F, GALLAGHER RE, et al. Cell cycle dependant reactivity with the monoclonal antibody Ki-67 during myeloid cell differentiation. *Exp Cell Res* 1988; 179: 79-88.
366. WESSELING P, LAAK J, LINK M, et al. Quantitative analysis of microvascular changes in diffuse astrocytic neoplasms with increasing grade of malignancy. *Human Pathol* 1998; 29(4): 352-358.
367. WESSELING P, RUITER DJ, BURGER PC. Angiogenesis in brain tumors: pathobiological and clinical aspects. *J Neuro-Oncol* 1997; 32: 253-265.
368. WITTE O, HILDEBRAND J, LUXEN A, et al. Acute effect of carmustine on glucose metabolism in brain and glioblastoma. *Cancer* 1994; 74: 2836-2842.
369. WONG AJ, ZOLTCK PW, MOSCATELLO DK. The molecular biology and genetics of astrocytic neoplasms. *Seminars in Oncology* 1994; 21(2): 139-148.
370. WOOD JR, GREEN SB, SHAPIRO WR. The prognostic importance of tumor size in malignant gliomas. A computed tomography scan study by the Brain Tumor Cooperative Group. *J Clin Oncol* 1988; 6: 338-343.
371. WOOLSEY TD, ELDRED CA. A summary report on the survey of intracranial neoplasms. Rockville: Westat, 1977.
372. WRIGHT NA. Cell proliferation in health and disease. In Anthony PP, McSween RNM eds. *Recent advances in histopathology* 12. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1984: 17-33.

373. XU QZ, DUAN HL, LU DH. Immunohistochemical quantitative study of glial fibrillary acidic protein and vimentin of astrocytomas. *Chung-hua Ping Li Hsueh Chih* 1994; 23: 66-68.
374. YOSHIMINE T, MARUNO M, USHIO Y, et al. Intermediate filaments and anaplastic change of ENU-induced gliomas: immunohistochemical study with vimentin and astroprotein (GFAP). *J Neurooncol* 1987; 5: 377-385.
375. ZAMPIERI P, ZORAT PL, MINGRINO S, et al. Radiation associated cerebral gliomas: a report of two cases and review of the literature. *J Neurosurg Sci* 1989; 33: 271-279.
376. ZUBER P, HAMOU MF, TRIBOLET N. Identification of proliferating cells in human gliomas using the monoclonal antibody Ki-67. *Neurosurgery* 1988; 22: 364-368.
377. ZULCH KJ. Histological typing of tumors of the central nervous system. Geneva: World Health Organization 1979: 17-57.
378. ZULCH KJ. Brain tumors. Their biology and pathology. Berlin: Springer Verlag, 1986.



ANEXO

ANEXO I: BASE DE DATOS. TABLA DE FRECUENCIAS

	sexo	edad	superv	gfp	ki_67	necrosis	c_paq	vasc	ext.	lobulo	hemisf	status	oms	tesis
1	VARON	60	12	++	15	SI	NO	NO	T-4	T	I	80-90	GB	AA
2	VARON	69	11	+	37	SI	NO	NO				60-70	GB	GB
3	VARON	60	17	+	19	SI	SI	NO	T-2	F	D	80-90	GB	GB
4	VARON	58	6	+	38	SI	NO	SI	T-3	P-T	I	60-70	GB	GB
5	VARON	68	4	+	32	SI	NO	SI	T-2	F	I	60-70	GB	GB
6	VARON	61	9	+	30	SI	NO	SI	T-1	O	D	80-90	GB	GB
7	MUJER	56	10	+	32	SI	SI	SI	T-1	F-P	I	80-90	GB	GB
8	MUJER	54	6	++	15	SI	SI	SI	T-1	T	I	80-90	GB	AA
9	VARON	48	6	+++	6	SI	NO	SI	T-4	P-T	I	40-50	GB	AA
10	VARON	62	11	++	34	SI	NO	SI	T-1	P-T	D	40-50	GB	GB
11	VARON	17	18	++	21	SI	NO	SI	T-4	P	I	60-70	GB	GB
12	VARON	66	24	+++	4	SI	NO	NO	T-2	P-O	D	60-70	GB	AA
13	MUJER	62	10	+	30	SI	SI	NO	T-4	O	BILAT	60-70	GB	GB
14	VARON	53	8	++	9	SI	NO	SI	T-2	F	I	80-90	GB	AA
15	VARON	44	7	++	10	NO	SI	NO	T-3	T	D	60-70	AA	AA
16	MUJER	53	2	++	25	SI	NO	SI	T-1*	P-T	I	80-90	GB	GB
17	VARON	66	4	+++	18	SI	NO	SI	T-2	T	I	40-50	GB	GB
18	MUJER	68	15	++	7	SI	SI	NO	T-1	P-T	I	40-50	GB	AA
19	VARON	54	12	+++	6	SI	NO	NO	T-1	T	I	60-70	GB	AA
20	VARON	45	8	+++	10	SI	NO	SI	T-1	P-T-O	D	80-70	GB	AA
21	MUJER	70	11	+++	8	SI	NO	SI	T-1	P	D	60-70	GB	AA
22	MUJER	31	3	+	30	SI	NO	SI	T-1	P-T-O	D	80-90	GB	GB
23	VARON	55	8	++	18	SI	NO	SI	T-2	P-T	I	40-50	GB	GB
24	VARON	66	5	+	28	SI	NO	SI	T-2	F-P	I	60-70	GB	GB
25	VARON	19	12	+++	14	NO	NO	NO	T-4	P	I	80-70	AA	AA
26	VARON	69	7	++	22	SI	NO	NO	T-1	P-O	I	60-70	GB	GB
27	MUJER	73	4	++	22	SI	NO	SI	T-1	T	D	40-50	GB	GB
28	VARON	53	2	+	35	SI	NO	NO	T-1	O	D	60-70	GB	GB
29	VARON	60	6	++	21	SI	NO	NO	T-1	F-P	D	60-70	GB	GB
30	MUJER	44	7	++	16	SI	SI	NO	T-2	T	D	60-70	GB	GB
31	MUJER	23	12	++	7	NO	NO	NO	T-1	O	D	60-70	AA	AA
32	VARON	56	12	+++	24	NO	NO	SI	T-2	P	D	60-70	GB	GB
33	MUJER	62	12	+++	10	NO	NO	NO	T-2	F	D	80-90	AA	AA
34	VARON	54	11	++	35	SI	NO	SI	T-4*	F-P	BILAT	40-50	GB	GB
35	MUJER	28	5	++	22	NO	NO	SI	T-4	F-P	I	40-50	GB	GB
36	MUJER	77	5	+	26	SI	NO	NO	T-1	T	I	60-70	GB	GB
37	MUJER	62	2	++	35	SI	SI	SI	T-4*	F-P	BILAT	40-50	GB	GB
38	MUJER	69	11	++	8	SI	SI	SI	T-1	F-P	D	60-70	GB	AA
39	VARON	65	5	+++	6	SI	NO	SI	T-2	P-T	I	60-70	GB	AA
40	MUJER	49	6	+	11	SI	SI	SI	T-2	P-T	I	40-50	GB	GB
41	VARON	55	21	+++	13	NO	NO	NO	T-2	F	I	60-70	AA	AA
42	VARON	36	26	+++	5	NO	NO	NO	T-3	T	I		AA	AA
43	VARON	60	7	++	4	SI	NO	SI	T-2	T	D		GB	AA
44	VARON	48	10	++	13	SI	NO	SI	T-2	P-T	I		GB	AA
45	MUJER	72	3	+	23	NO	NO	NO	T-1	T	I	40-50	AA	GB
46	VARON	69	2	++	23	NO	NO	NO	T-3	F	I	80-90	AA	GB
47	VARON	49	26	+++	7	NO	NO	NO	T-4	F-P-T	I	80-90	AA	AA

	sexo	edad	superv	glap	ki_67	necrosis	c_paq	vasc	ext	lobulo	hemisf	status	oms	tesis
48	VARON	70	4	+	33	NO	SI	NO	T-1	O	I		AA	GB
49	VARON	72	4	+++	33	NO	NO	NO	T-2	P-T	I	60-70	AA	GB
50	VARON	61	10	+++	12	NO	NO	SI	T-3	P-T	D	80-90	GB	AA
51	VARON	53	7	+	20	SI	NO	NO	T-1	O	I		GB	GB
52	MUJER	69	3	+	34	SI	SI	NO	T-1	F-P-T	D		GB	GB
53	VARON	49	5	+++	23	SI	NO	NO	T-4	O	BILAT	80-90	GB	GB
54	VARON	35	11	+++	9	SI	NO	SI	T-3*	F-P-T	I	80-90	GB	AA
55	VARON	53	7	+	12	NO	NO	NO	T-2	F-P	D	40-50	AA	GB
56	VARON	53	14	+++	8	NO	NO	NO	T-1	F	I	40-50	AA	AA
57	VARON	49	4	++	18	SI	NO	SI	T-4	F	D	80-90	GB	GB
58	MUJER	65	9	++	8	SI	SI	SI	T-3	P-T-O	D	80-90	GB	AA
59	VARON	52	8	++	15	SI	NO	SI	T-1	F-P	D		GB	AA
60	VARON	68	12	++	12	SI	SI	NO	T-1	O	I		GB	AA
61	VARON	68	9	+++	9	SI	NO	NO	T-2	O	D	80-90	GB	AA
62	VARON	55	20	+++	28	SI	NO	NO	T-2	F-P	I	80-90	GB	GB
63	VARON	76	11	+++	13	SI	NO	SI	T-1	P	I	60-70	GB	AA
64	MUJER	46	6	++	18	SI	NO	SI	T-1*	F-P-T	I	80-90	GB	GB
65	VARON	53	9	+++	10	NO	NO	NO					AA	AA
66	VARON	55	11	+++	3	SI	NO	SI	T-3	T	D	80-90	GB	AA
67	VARON	61	3	+	38	SI	NO	NO	T-1	P-O	D		GB	GB
68	VARON	61	3	+	34	SI	NO	NO	T-1	F	I	80-90	GB	GB
69	MUJER	38	11	+++	4	NO	NO	NO	T-3	F	D	80-90	AA	AA
70	VARON	44	10	++	7	SI	SI	NO	T-4*	F-P	BILAT		GB	AA
71	VARON	60	7	++	21	SI	NO	SI	T-1	P	I	60-70	GB	GB
72	VARON	50	5	++	23	SI	NO	SI	T-1	P	D	60-70	GB	GB
73	MUJER	69	8	+++	47	SI	NO	SI	T-1	P	D	60-70	GB	GB
74	VARON	77	10	++	12	NO	NO	NO	T-1	P-T-O	D		AA	AA
75	VARON	76	8	++	22	SI	NO	SI	T-1	P-T-O	I		GB	GB
76	MUJER	58	9	++	15	SI	SI	NO	T-2	T	D	60-70	GB	AA
77	VARON	55	7	+++	18	SI	SI	SI	T-1	P	D		GB	GB
78	VARON	5	8	++	26	NO	SI	SI	T-4	T	I	60-70	GB	GB
79	VARON	68	20	+++	5	NO	NO	NO	T-2	P-O	I		AA	AA
80	VARON	37	24	++	4	NO	NO	NO	T-1	F-P	I	80-90	AA	AA
81	VARON	76	21	+++	4	SI	NO	SI	T-2	T	I		GB	AA

Valor desconocido.

* Tumor múltiple.

1 El tiempo de supervivencia se refiere en meses.

2 El status se refiere según la escala de Karnofsky.

3 AA: Astrocitoma anaplásico (astrocitoma grado 3)

4 GB: Glioblastoma (astrocitoma grado 4)

