

Correlación entre la expresión del EGFR y el Ki-67 en astrocitomas difusamente infiltrantes en una serie de casos de la Fundación Centro Colombiano de Enfermedades Neurológicas y Epilepsia–Fire– de la ciudad de Cartagena de Indias (Colombia)

The relationship between the detection of EGFR and Ki-67 in diffusely infiltrating astrocytic tumors from archives of Centro Colombiano de Enfermedades Neurológicas y Epilepsia–Fire– in Cartagena de Indias (Colombia)

Elsa Martínez-Muñoz¹, Martha Tuñón-Pitalúa², Zenén Carmona-Meza³

Resumen

Objetivo: Identificar la relación entre expresión del EGFR y Ki-67 en tumores astrocíticos infiltrantes asociados con edad y sexo de los pacientes.

Metodología: Se realizó un estudio descriptivo transversal. Se revisaron láminas histológicas de archivo, con diagnóstico de astrocitoma difuso, anaplásico y glioblastoma, entre el 1° de enero de 2008 a 31 de diciembre de 2012. Los datos fueron consignados en tabla de Excel de acuerdo con las variables definidas y se exportaron al paquete estadístico SPSS, versión 17,0. Fueron analizadas las variables género, edad, grado histológico, porcentajes de inmunotinción para Ki-67 y EGFR.

Resultados: Se identificaron 48 pacientes, edad promedio de $43,2 \pm 18,1$ años. Ligero predominio del sexo masculino: 22 (45,8 %) mujeres y 26 (54,2 %) hombres. La mayoría de casos se encontró en pacientes entre 21 y 40 años, y en este grupo fueron más frecuentes los astrocitomas difusos. El grado histológico más frecuente fue el IV, que correspondió al 50 % de los casos. El análisis de los inmunomarcadores no demostró correlación significativa entre la expresión del EGFR y el Ki-67 ($r = -0,019$; $P = 0,89$).

¹ Estudiante de posgrado en Patología, Universidad de Cartagena. Cartagena (Colombia).

² Médico patólogo, MSc. Docente de posgrado en la Universidad de Cartagena. Cartagena (Colombia).

³ Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas. Docente Facultad de Medicina Universidad de Cartagena. Cartagena (Colombia).

Correspondencia: Zenén Carmona. Universidad de Cartagena. Avenida del Consulado, calle 30 n° 48-152, Cartagena de Indias (Colombia). zened1982@hotmail.com

Fecha de recepción: 20 de mayo de 2014
Fecha de aceptación: 11 de julio de 2014

Salud Uninorte
Vol. 30, N° 3, 2014
ISSN 0120-5552

<http://dx.doi.org/10.14482/sun.30.1.4309>

Conclusión: La mayoría de los estudios muestra relación entre la detección del EGFR y el Ki-67 y su asociación con peor pronóstico de los pacientes. La presencia de otras posibles mutaciones en estos tumores no detectadas por estudios de inmunohistoquímica limitó nuestros resultados.

Palabras clave: astrocitoma, glioblastoma, antígeno Ki-67, EGFR.

Abstract

Objective: To identify the relationship between the expression of EGFR and Ki-67 in infiltrating astrocytic tumors and its association with patient's age and sex.

Methods: A descriptive cross-sectional study. Histological samples diagnosed with diffuse astrocytoma, anaplastic, and glioblastoma were reviewed from January 1, 2008 to December 31, 2012. Data were entered in Excel table according to defined variables and subsequently exported to SPSS version 17.0. Were analyzed the variables gender, age, histological grade, percentage of Ki-67 and EGFR immunostaining.

Results: 48 patients were identified with a mean age of 43.2 ± 18.1 years. Slight predominance in males: 22 (45.8 %) women and 26 (54.2 %) men. The highest percentage of cases was found in the group of patients between 21 and 40 years, more frequent in this group diffuse astrocytomas. The most common histologic grade was generally grade IV, corresponding to 50 % of cases. The analysis of the immune markers showed no significant correlation between EGFR expression and Ki-67 ($r = -0.019$, $P = 0.89$).

Conclusions: Most studies show a strong relationship between the detection of EGFR and Ki-67 and its association with poor prognosis of patients. The presence of other possible mutations in these tumors not detected by immunohistochemistry merely our results.

Keywords: astrocytoma, glioblastoma, Ki-67 Antigen EGFR.

INTRODUCCIÓN

Los astrocitomas son el tipo más común de neoplasia cerebral primaria y representan aproximadamente el 51 % de todos los gliomas (1). Estos tumores presentan tendencia a la recurrencia y progresión a un tumor de mayor grado (1, 2), que varía dependiendo de su grado histológico. La presentación de los síntomas clínicos es variable, depende de la localización, tamaño y compresión a estructuras adyacentes.

Según la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer de la Organización Mundial de la Salud (GLOBOCAN, 2008), los tumores del sistema nervioso central tienen una incidencia de 2,9 % en hombres y 2,2 % en mujeres, en proporción de 100 000, solo para la población adulta (3). Por otra parte, Ramos y Tuñón reportaron tasa de inciden-

cia en Cartagena de los tumores primarios del sistema nervioso central en adultos de 9,42/100 000 y en niños de 3,17/100 000 personas/año.

Comparando el comportamiento por género se encontró que la incidencia en las mujeres fue 4,97/100 000 y en hombres de 4,40/100 000 personas/año, no siendo significativa.

En este trabajo los astrocitomas y glioblastoma (GB) representan el segundo y el tercer lugar, respectivamente, con un porcentaje de 26,2 % y 23,5 % en los adultos; en los niños, los astrocitomas ocuparon el grupo histológico más frecuente, con el 51 % (4).

Para guardar los astrocitomas se utilizan varios sistemas de clasificación el utilizado

actualmente es el publicado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2007.

El astrocitoma difuso (grado II), el astrocitoma anaplásico (grado III) y el glioblastoma (grado IV) constituyen el grupo de tumores astrocíticos difusamente infiltrantes (5) (ver figura 1). En general, el tiempo de supervivencia de pacientes con este tipo de tumores es corto; el grado histológico se considera uno de los indicadores pronósticos más importantes, aunque recientemente están siendo investigados el papel de otros factores pronósticos (6). Según la OMS, el diagnóstico realizado en pacientes jóvenes se considera un valor predictivo de un curso más favorable, siendo el tamaño del tumor un predictor negativo. La resección total del tumor está asociada con mayor supervivencia (7). Histológicamente, los astrocitomas difusos con componente gemistocítico importante tienden a sufrir progresión maligna más rápidamente que los astrocitomas fibrilares ordinarios. Contrariamente, la presencia de microquistes está asociada con mejor pronóstico.

El astrocitoma anaplásico y el astrocitoma difuso tienen una fuerte tendencia a la progresión a GB con intervalo de aproximadamente dos años. En pacientes con GB, el tiempo de supervivencia es de aproximadamente 1 año, a pesar de todas las modalidades de tratamientos que incluyen la resección quirúrgica, radioterapia y quimioterapia. Sin embargo, la supervivencia más allá del quinto año después de la cirugía se ha observado en un pequeño número de pacientes (2). Por estas razones, hay interés desde hace mucho tiempo en la identificación de marcadores pronósticos para los astrocitomas, que en la actualidad incluyen varios factores de crecimiento, como: factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de creci-

miento endotelial vascular (VEGF), receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), receptor del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR), mutaciones de varios oncogenes o genes supresores de tumor, anomalías citogenéticas y otros parámetros de la angiogénesis.

Diversos marcadores de proliferación celular, como PCNA, Ki-67 (MIB-1), índice de marcador BudR y AgNOR, son cada vez más utilizados como objeto de investigación en los diferentes grados de astrocitomas difusamente infiltrantes. El Ki-67 es un antígeno nuclear expresado en las fases G1, S, G2 y M del ciclo celular. El anticuerpo monoclonal MIB-1 detecta este antígeno nuclear expresado por las células en proliferación durante todo el ciclo celular (1).

Cada vez hay más evidencia de que la progresión de astrocitoma de bajo grado a astrocitoma anaplásico y glioblastoma está asociada a la adquisición acumulativa de múltiples alteraciones genéticas que involucran protooncogenes y genes supresores de tumores (6, 8-11). El gen más frecuentemente amplificado en tumores astrocíticos es el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), presente en el cromosoma 7, que comparte una homología estructural con el oncogen *v-erbB* (6, 8, 9).

El factor de crecimiento epidérmico (EGF) fue identificado por el embriólogo Stanley Cohen en la década de 1960 y su receptor (EGFR) fue identificado una década después (12,13). El EGFR es un receptor transmembrana de glicoproteína tipo tirosin quinasa activada que conduce a la mitosis. Son cinco las mutaciones que se pueden presentar: tres en el compartimento extracelular (EGFRv I, EGFRv II y EGFRv III) y dos intracelulares (EGFRv V y EGFRv IV), siendo EGFRvII, EGFRvIII y EGFRvV las mutaciones por delección o pérdida que se

encuentran con mayor frecuencia en GM (14). Las deleciones en las regiones extracelulares se presentan con mayor frecuencia (60 - 70 %). En la región intracelular, la transcripción del EGFR se trunca y codifica de forma constitutiva para un receptor activo (EGFRv IV y EGFRv V) (14-16). La señalización mediada por EGFR se produce a través de varias proteínas de acoplamiento y adaptadores, causando mayor tumorigenicidad, debido a estímulo de la proliferación celular y reducción de la apoptosis (6, 11, 17-19). La alta expresión se observa en muchos tipos de cáncer, como en el pulmón (20, 21), mama (22), cabeza y cuello (23), carcinoma de vejiga (24), así como en los gliomas (25). La sobreexpresión de EGFR induce la proliferación anormal de las células y el fenotipo neoplásico (26).

Teniendo en cuenta esta problemática, y sabiendo que ya se ha estudiado en otras partes del mundo este tipo de tumores en relación con sus características moleculares (1, 6), es claro que las alteraciones genéticas tienen un papel importante en el grado histológico de los tumores astrocíticos.

Este proyecto pretendió encontrar la correlación entre la expresión por inmunohistoquímica del receptor del factor de crecimiento epidérmico y el índice de proliferación celular marcado mediante Ki-67 en los tumores astrocíticos infiltrantes y su asociación con la edad y el sexo de los pacientes que puedan relacionarse un comportamiento biológico agresivo.

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio descriptivo tipo serie de casos, en el que fueron revisadas todas las muestras de tumores con diagnóstico de astrocitoma difuso, astrocitoma anaplásico y GB, provenientes de los archivos de un hospital neurológico de la ciudad de Cartagena de

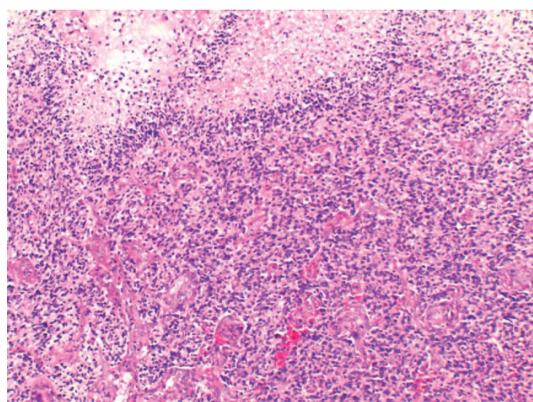
Indias (Colombia), durante el periodo 1° de enero de 2008 al 31 de diciembre de 2012. Se incluyeron las muestras correspondientes a biopsias estereotácticas o resecciones quirúrgicas de tumores que tuvieran disponibilidad de tejido en bloques de parafina, aptos para realizar estudios de inmunohistoquímica.

Fueron excluidas las muestras en que se hallaba agotado el tejido del bloque histológico y/o presentaran mal proceso de fijación y aquellos casos respecto a los cuales no se disponía de datos clínicos.

El estudio incluyó revisar todas las láminas histológicas teñidas con hematoxilina y eosina (H y E) por dos patólogos y confirmar su clasificación, teniendo en cuenta los criterios diagnósticos de la OMS en 2007 (7). Las diferencias de opinión se resolvieron por consenso. Se procedió a realizar las tinciones de inmunohistoquímica utilizando Solutions Thermo Scientific de receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR- Ab-10) con anticuerpo monoclonal de ratón, clon 111.6, isotipo IgG1 con peso molecular 170KDa, inmunogen de dominio extracelular, tipo v III y Ki-67 con anticuerpo monoclonal de conejo, clon SP6 y isotipo IgG. Utilizando kit de detección de Thermo Scientific - Quanto Ultravisión.

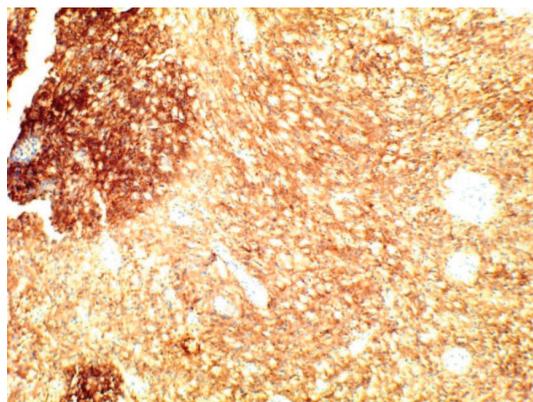
Se inició realizando cortes de tejido a 3 micras, luego se disarrafino en horno a 60 grados, con recuperación antigénica PH9, se realizó reducción de peroxidasa endógena con peróxido de hidrógeno; posteriormente reducción de *background* no específico con el reactivo comercial Ultravisión Protein Block y se aplicó el anticuerpo primario de EGFR y Ki-67 a una dilución de 1:50 y 1:100, respectivamente, luego se realizó aplicación del amplificador: Primary Antibody Amplifier, aplicación del polímero: HRP Polymer Quanto y revelado con DAB Quanto Chromogen. Se

tomaron como controles positivos tejido de placenta para EGFR y tejido de ganglio linfático para Ki-67(6). Para EGFR se consideró positiva cuando había presencia de tinción marrón en la membrana citoplasmática. Dependiendo del porcentaje de células con expresión de la inmunotinción, se le asignó un grado: leve (< 10 %), moderado (10-20 %) y marcado (> 20 %), en consonancia con la clasificación utilizada por Maiti y colaboradores (6) (ver figura 2).



Fuente: propia de los autores

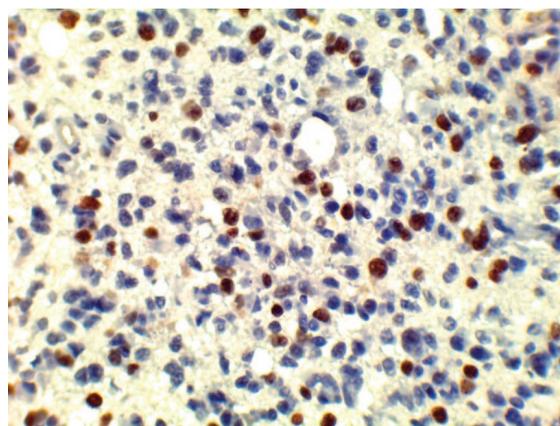
Figura 1. Tumor astrocítico grado IV (glioblastoma), presencia de áreas de necrosis con empalizada periférica y proliferación microvascular. Hematoxilina y eosina, 10x



Fuente: propia de los autores

Figura 2. Tumor astrocítico grado IV (glioblastoma), sobreexpresión de EGFR en la membrana plasmática de las células tumorales. Inmunohistoquímica EGFR, 10x

Para la evaluación del Ki-67 se eligió el área con mayor número de células con núcleos teñidos de café en objetivo de 10x, después con objetivo de 40x se contó el número de células positivas entre 200 células neoplásicas, y se expresó el resultado en porcentaje. Este valor fue dicotomizado en menor de 2 % y mayor o igual a 2 %, de acuerdo con la propuesta de Ellison y colaboradores (27); dado que este punto de corte se asocia con la supervivencia de los pacientes con astrocitomas cerebrales (27) (ver figura 3).



Fuente: propia de los autores

Figura 3. Tumor astrocítico grado III (astrocitoma anaplasico), expresión nuclear del Ki-67 en células tumorales que están en proliferación celular. Inmunohistoquímica Ki-67, 40x

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron consignados en tabla de Excel de acuerdo con las variables definidas, y posteriormente fueron exportados al paquete estadístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) versión 17,0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, EE. UU.).

La distribución de los datos se determinó mediante la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y se obtuvieron medidas

de tendencia central (media, frecuencias y medianas) y medidas de dispersión (desviación estándar y/o rangos intercuartílicos), según fuese apropiado.

Las características generales de la muestra se compararon entre los géneros mediante pruebas pareadas de Mann-Whitney o *t* de Student, de acuerdo con la distribución de las variables.

Para evaluar la existencia de correlación entre la inmunoexpresión de EGFR con el índice de proliferación Ki-67 se calculó el coeficiente de Pearson. Se consideró una correlación baja, intermedia o alta cuando el valor de *r* se ubicó entre 0 a 0,29, 0,3 a 0,5 o mayor que 0,5, respectivamente. Adicionalmente se determinó el *odds ratio* (OR) e intervalos de confianza del 95 % y medidas de asociación entre los dos marcadores utilizando la prueba de Chi-cuadrado con su respectivo valor de significancia estadística considerando un grado de libertad.

RESULTADOS

Se obtuvieron 48 casos muestras procedentes de 22 (45,8 %) mujeres y 26 (54,2 %) hombres. La edad de los pacientes osciló entre 3 y 78 años, sin seguir una distribución paramétrica, con una edad promedio de $43,2 \pm 18,1$ años. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la proporción de hombres y mujeres (ver tabla 1).

El mayor número de muestras se encontró en los grupos de pacientes mayores de 20 años se presentaron el 91,75 % de los casos, y solo 8,25 % eran menores o iguales a 20 años, que correspondió a cuatro (4) pacientes. El mayor porcentaje de las muestras pertenecía al grupo de pacientes entre 21 y 40 años, seguido del grupo de mayores de 61 años; sin embargo, el mayor número de muestras correspondientes a glioblastomas se presentó en este último grupo, que representó el 18,7 %, y solo el 8,3 % en el grupo de 21 a 40 años, en el que fueron más frecuentes los astrocitomas difusos, con un 18,7 %, y los glioblastomas solo representaron el 12,4 % del total los casos (ver tabla 2).

Tabla 1. Características de la muestra de acuerdo con el género

Característica	Masculino	Femenino	P
Número de casos presentes	26 (54 %)	22 (46 %)	0,665
Edad	43,9 \pm 18,9 años	42,4 \pm 17,4 años	0,76
Grado II	7 (27 %)	8 (36,4 %)	0,93
Grado III	5 (19,2 %)	4 (18,2 %)	0,48
Grado IV	14 (53,8 %)	10 (45,4 %)	0,56
Ki-67	8 % (RIC, 0 - 15 %)	4 % (RIC, 0 - 10 %)	<0,001
EGFR	20% (RIC, 1 - 70 %)	25 % (RIC, 10 - 60 %)	0,48
Ki-67 < 2 %	9 (34,6 %)	10 (45,5 %)	0,44
Ki-67 \geq 2 %	17 (65,4 %)	12 (54,5 %)	0,44
EGFR leve	11 (42,3 %)	6 (27,3 %)	0,28
EGFR moderado y marcado	15 (57,7 %)	16 (72,7 %)	0,28

Fuente: reporte de patología.

Tabla 2. Clasificación histológica en relación con el grupo de edad de las muestras estudiadas

Grupo de edad	Clasificación histológica			
	Grado II	Grado III	Grado IV	Total (%)
< 20 años	2(4.16 %)	1 (2.0 %)	1 (2.0 %)	4 (8.25 %)
21 - 40 años	9(18.7 %)	5(10.41%)	6 (12.5 %)	20 (41.6 %)
41 - 60 años	2(4.16 %)	3 (6.25 %)	8(16.6 %)	13 (27 %)
> 61 años	2(4.16 %)	0 (0 %)	9(18.7 %)	11 (22.9 %)
Total	15(31.25)	9(18.7 %)	24 (50 %)	48 (100 %)

Fuente: historia clínica.

Análisis histológico e inmunohistoquímico

En la evaluación histológica de los astrocitomas infiltrantes, el grado histológico más frecuente fue el grado IV, que correspondió al 50 % de los casos (24 pacientes), seguido del grado II, con un 31,3 % (15 pacientes), y el grado III, con un 18.8 % (9 pacientes). La expresión del EGFR en las muestras estudiadas fue valorada como marcado en el 50 % de los casos, moderado en el 14.6 % y leve en el 35.4 %. La distribución de inmunomarcación para Ki-67 y EGFR de acuerdo con el grado histológico se presenta en la tabla 3.

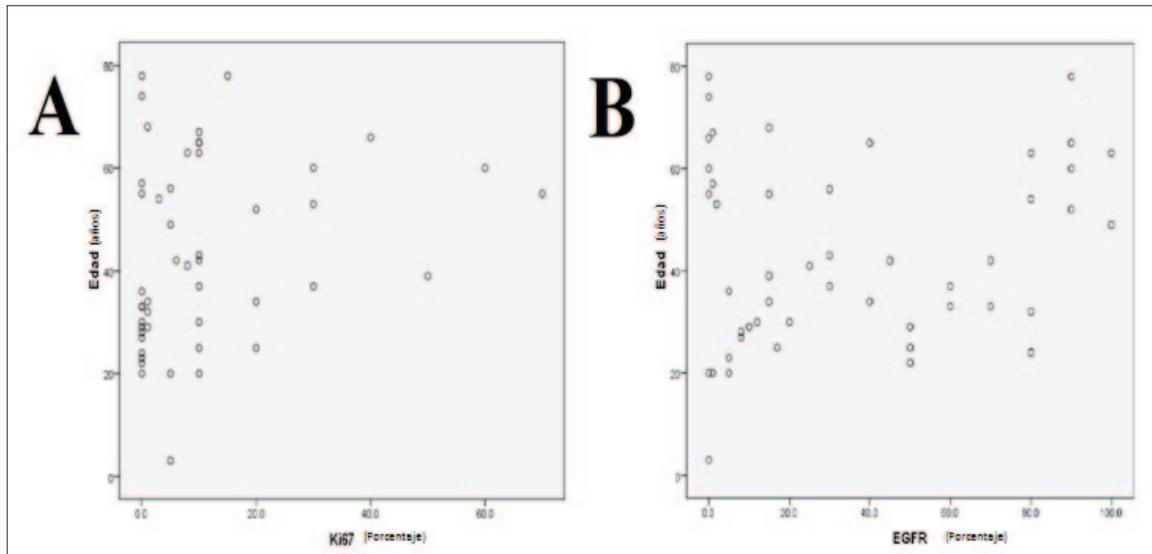
Tabla 3. Distribución de la inmunomarcación para EGFR y Ki-67 de las muestras estudiadas

	EGFR		Total
	Leve	Moderado y marcado	
Ki-67 <2 %	8 (47,1 %)	21 (67,7 %)	19 (39,6 %)
Ki-67 ≥2 %	9 (52,9 %)	10 (32,3 %)	29 (60,4 %)
Total	17 (35,4 %)	31 (64,6 %)	48 (100 %)

Fuente: reporte de patología.

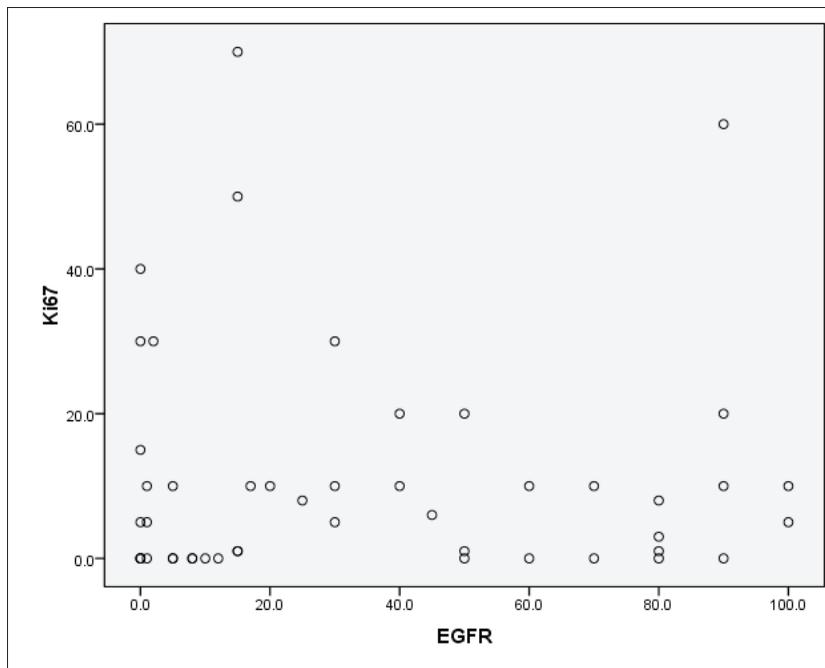
La mediana del porcentaje de inmunoexpresión del Ki-67 en todas las muestras fue 5,5% (RIC, 0 - 10 %), mientras que la del EGFR fue 22,5 % (RIC, 5 - 65 %). No se encontró correlación estadísticamente significativa entre la edad y el porcentaje de inmunoexpresión de Ki-67 ($r = 0,174$; $P = 0,24$). Sin embargo, se documentó una baja correlación positiva ($r = 0,254$) entre el porcentaje de inmunoexpresión de EGFR y la edad; aunque tampoco alcanzó el criterio preestablecido de significancia estadística ($P = 0,08$) (ver gráfico 1). El análisis de los inmunomarcadores no demostró correlación significativa entre la expresión del EGFR y el Ki-67 ($r = -0,019$; $P = 0,89$) (ver gráfico 2).

La comparación entre la proporción de inmunotinción para Ki-67 y EGFR no mostró diferencias estadísticamente significativas ($P = 0,16$). El análisis entre estos marcadores demostró que no existe la asociación entre la inmunomarcación para EGFR y los índices de proliferación [$OR = 2,4$ (IC95 %: 0,7 - 7,9)].



Fuente: elaborada por los autores.

Gráfico 1. Gráficos de dispersión de las correlaciones entre la edad y el porcentaje de inmunomarcación para Ki-67 (a) y EGFR (b)



Fuente: elaborada por los autores.

Gráfico 2. Gráfico de dispersión de la correlación entre el porcentaje de inmunomarcación para Ki-67 y EGFR

Este estudio determinó que la expresión por inmunohistoquímica del EGFR y el Ki-67 no presentó correlación significativa.

Al analizar la expresión del EGFR se encontró que se expresa de forma moderada y marcada en el 64,6 % de los gliomas revisados. Resultados similares encontraron Larysz et al. (26), con expresión del 61,8 %, y observaron que la mutación EGFRvIII es más frecuente en pacientes mayores de 50 años, con una leve tendencia hacia una mayor expresión génica en sujetos de mayor edad. Alrededor de 1/3 de gliomas de alto grado no demostraron expresión de genes anormales, y recomendaron que EGFR debe ser tomado en cuenta en cualquier intento de terapia dirigida (26). En el estudio citado se analizó la expresión del gen EGFR por PCR en tiempo real con tres amplificaciones diferentes ubicados en todo el gen, y se identificó una de las formas mutantes del EGFR. En nuestro caso se realizó detección de sobreexpresión por inmunohistoquímica en bloque de parafina, con tejido previamente formolizado. Específicamente, en los glioblastomas primarios la amplificación y sobreexpresión del EGFR se presenta en un 40 al 60 % (15); en este caso se expresaron en el 50 % de los casos.

En tumores astrocíticos se han estudiado múltiples marcadores de proliferación celular utilizando el Ki-67 (MIB-1) en los diferentes grados de astrocitomas difusamente infiltrantes; sumado a la adquisición acumulativa de múltiples alteraciones genéticas que constan de protooncogenes y genes supresores de tumores, en las que el receptor del factor de crecimiento epidérmico es el gen más frecuentemente amplificado en estos tumores (6,8,9).

La (OMS) ha explicado que los tumores astrocíticos se presentan con ligero predominio en

el sexo masculino, independientemente del grado histológico (7). Este hallazgo también fue encontrado en esta serie, en la que el sexo masculino presentó una prevalencia del 54 % en comparación con el sexo femenino, con un 46 %. No se encontró relación entre el sexo y la incidencia de algún grado histológico específico de este tipo de tumores, ni su asociación con la sobreexpresión de inmunomarcadores, en especial del EGFR ni Ki-67.

De acuerdo con la OMS, la incidencia de estos tumores varía dependiendo del grado histológico, en que los astrocitomas difusos presentan un pico de incidencia entre los 30 y 40 años, los astrocitomas anaplásicos cursan con una edad media de diagnóstico de 46 años y los glioblastomas cursan con edad media de 61,3 años y más del 80 % de los pacientes son mayores de 50 años (7). De igual manera, en este estudio se observó que el mayor número de muestras con diagnóstico de astrocitoma difuso se presentó en el grupo de 21 a 40 años y representaron el 18,7 %; asimismo, el mayor número de glioblastomas correspondió a muestras de pacientes mayores de 60 años, con un 18,7 %, precedidos por el 16 % en el grupo de 41 a 60 años.

Los estudios revisados muestran valores crecientes del Ki-67 con el aumento del grado de malignidad de los tumores astrocíticos. La mayoría muestra diferencia significativa entre los astrocitomas difusos grado II y los astrocitomas anaplásicos grado III, así como los glioblastomas; pero no hay marcados cambios entre astrocitomas anaplásicos y glioblastomas (1, 27, 28).

Sin embargo, en este estudio no encontramos una diferencia significativa entre los grados histológicos. Este resultado podría explicarse por el tamaño de la muestra estudiada.

De igual manera, no se encontró correlación estadísticamente significativa entre la edad y el porcentaje de inmunoexpresión de Ki-67. Este resultado es similar al encontrado por Isolan et al. (29). Los estudios realizados por Abdelaziz et al. y Rodríguez-Pereira et al. sí revelaron correlación entre la edad y el mayor porcentaje de expresión de Ki-67 (27, 28). Esta variación puede deberse a diferentes anticuerpos utilizados para inmunohistoquímica en la detección de antígeno Ki-67, además de diferencias en el tamaño de la población y los grupos raciales.

No se encontró ninguna relación entre la edad de los pacientes con la expresión del EGFR; al respecto, en la literatura revisada no se encontró información.

Se ha determinado que la capacidad proliferativa de las células en los tumores astrocíticos evaluadas por Ki-67 está influenciada positivamente por la expresión de la proteína del EGFR, pudiendo estar involucrados en el control de la proliferación tumoral (30). En la actualidad, la asociación entre la expresión de la proteína EGFR y el pronóstico del paciente está siendo evaluada muy especialmente utilizando estudios genéticos y biología molecular. Se ha informado de estudios en grupos de pacientes con tumores astrocíticos en los que el EGFR ha sido positivo presentan una mala supervivencia (30).

En nuestro caso se utilizó la detección por inmunohistoquímica del EGFR, lo cual refleja la cantidad de expresión del EGFRvIII, sin embargo, hay algunos gliomas que expresan cualquiera de las otras variantes de EGFR, las cuales han sido asociadas a proliferación descontrolada de estos tumores, siendo detectadas en estos casos por detección genética. Dado que no hubo correlación entre Ki-67

y EGFR, esto indica que posiblemente en los estudios previos se incluyeron las otras variantes de las mutaciones y por esta razón se ha encontrado mayor proliferación y menor sobrevida. Es decir, no es la cantidad de expresión, si no la proporción de los tumores que presenten una u otra mutación. Lo cual no fue posible determinar en este estudio por el método utilizado, y los resultados se limitan a los casos que presentan solo EGFRvIII.

CONCLUSIÓN

A pesar de que nuestros resultados no fueron significativos, la mayoría de los estudios revela una amplia relación entre la detección del EGFR y el Ki-67 y su asociación con peor pronóstico de estos pacientes. En nuestro trabajo esto no fue demostrado por la limitación de los estudios de inmunohistoquímica al detectar solo el EGFRvIII. Se recomienda realizar estudios amplios para la detección genética del EGFR. Sin embargo, se considera que hace falta mayor investigación para definir conductas clínicas ante estos resultados.

Conflicto de intereses: ninguno.

Financiación: Universidad de Cartagena.

REFERENCIAS

1. Chaloob MK, Ali HH, Qasim BJ, Mohammed AS. Immunohistochemical Expression of Ki-67, PCNA and CD34 in Astrocytomas: A Clinicopathological Study. *Oman Med J* 2012 Sep;27(5):368-74.
2. Tugcu B, Postalci LS, Gunaldi O, Tanriverdi O, Akdemir H. Efficacy of clinical prognostic factors on survival in patients with glioblastoma. *Turk Neurosurg* 2010;20(2):117-25.
3. GLOBOCAN. International Agency for Research on Cancer. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr/>

4. Ramos-Clason EC, Tuñón-Pitalua MC, Rivas-Muñoz FA, Veloza-Cabrera LA. Primary central nervous system tumours reported in Cartagena, 2001-2006. *Rev Salud Pública* (Bogotá, Colombia) 2010;12(2):257-67.
5. Prayson RA. *Neuropathology*. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2012.
6. Maiti AK, Ghosh K, Chatterjee U, Chakrobarti S, Chatterjee S, Basu S. Epidermal growth factor receptor and proliferating cell nuclear antigen in astrocytomas. *Neurol India* 2008;56(4):456-62.
7. Louis DN, Ohgaki H. *Who Classification of Tumours of the Central Nervous System*. International Agency for Research on Cancer; 2007.
8. Ullrich A, Coussens L, Hayflick JS, Dull TJ, Gray A, Tam AW et al. Human epidermal growth factor receptor cDNA sequence and aberrant expression of the amplified gene in A431 epidermoid carcinoma cells. *Nature* 1984 June;309(5967):418-25.
9. Mischel PS, Shai R, Shi T, Horvath S, Lu KV, Choe G et al. Identification of molecular subtypes of glioblastoma by gene expression profiling. *Oncogene* 2003 April;22(15):2361-73.
10. Nagane M, Coufal F, Lin H, Bögl O, Cavenee WK, Huang HJ. A common mutant epidermal growth factor receptor confers enhanced tumorigenicity on human glioblastoma cells by increasing proliferation and reducing apoptosis. *Cancer Res* 1996 Nov;56(21):5079-86.
11. Prigent SA, Nagane M, Lin H, Huvar I, Boss GR, Feramisco JR et al. Enhanced tumorigenic behavior of glioblastoma cells expressing a truncated epidermal growth factor receptor is mediated through the Ras-Shc-Grb2 pathway. *J Biol Chem* 1996 Oct;271(41):25639-45.
12. Cohen S. Epidermal growth factor. *Vitro Cell Dev Biol J Tissue Cult Assoc* 1987 April;23(4):239-46.
13. Carpenter G, Cohen S. Epidermal growth factor. *J Biol Chem* 1990 May;265(14):7709-12.
14. Nicholas MK, Lukas RV, Jafri NF, Faoro L, Salgia R. Epidermal growth factor receptor - mediated signal transduction in the development and therapy of gliomas. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 2006 Dec;12(24):7261-70.
15. Idbaih A, Aimard J, Boisselier B, Marie Y, Paris S, Crinière E et al. Epidermal growth factor receptor extracellular domain mutations in primary glioblastoma. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2009 April;35(2):208-13.
16. Ohgaki H, Dessen P, Jourde B, Horstmann S, Nishikawa T, Di Patre P-L et al. Genetic pathways to glioblastoma: a population-based study. *Cancer Res* 2004 Oct;64(19):6892-9.
17. Torp SH, Helseth E, Dalen A, Unsgaard G. Epidermal growth factor receptor expression in human gliomas. *Cancer Immunol Immunother CII* 1991;33(1):61-4.
18. Huncharek M, Kupelnick B. Epidermal growth factor receptor gene amplification as a prognostic marker in glioblastoma multiforme: results of a meta-analysis. *Oncol Res* 2000;12(2):107-12.
19. Worm K, Dabbagh P, Schwechheimer K. Reverse transcriptase polymerase chain reaction as a reliable method to detect epidermal growth factor receptor exon 2-7 gene deletion in human glioblastomas. *Hum Pathol* 1999;30(2):222-7.
20. Ozanne B, Richards CS, Hendler F, Burns D, Gusterson B. Over-expression of the EGF receptor is a hallmark of squamous cell carcinomas. *J Pathol* 1986 May;149(1):9-14.
21. Sobol RE, Astarita RW, Hofeditz C, Masui H, Fairshter R, Royston I et al. Epidermal growth factor receptor expression in human lung carcinomas defined by a monoclonal antibody. *J Natl Cancer Inst* 1987;79(3):403-7.
22. Sainsbury JR, Malcolm AJ, Appleton DR, Farndon JR, Harris AL. Presence of epidermal growth factor receptor as an indicator of poor prognosis in patients with breast cancer. *J Clin Pathol* 1985;38(11):1225-8.
23. Harari PM. Epidermal growth factor receptor inhibition strategies in oncology. *Endocr Relat Cancer* 2004 Dec;11(4):689-708.

24. Neal DE, Marsh C, Bennett MK, Abel PD, Hall RR, Sainsbury JR et al. Epidermal-growth-factor receptors in human bladder cancer: comparison of invasive and superficial tumours. *Lancet* 1985 Feb;1(8425):366-8.
25. Libermann TA, Razon N, Bartal AD, Yarden Y, Schlessinger J, Soreq H. Expression of epidermal growth factor receptors in human brain tumors. *Cancer Res* 1984 Feb;44(2):753-60.
26. Larysz D, Kula D, Kowal M, Rudnik A, Jarzab M, Blamek S et al. Epidermal growth factor receptor gene expression in high grade gliomas. *Folia Neuropathol Assoc Pol Neuropathol Med Res Cent Pol Acad Sci* 2011;49(1):28-38.
27. Ellison DW, Steart PV, Bateman AC, Pickering RM, Palmer JD, Weller RO. Prognostic indicators in a range of astrocytic tumours: an immunohistochemical study with Ki-67 and p53 antibodies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1995 Oct;59(4):413-9.
28. Preusser M, Hoeflberger R, Woehrer A, Gelpi E, Kouwenhoven M, Kros JM et al. Prognostic value of Ki67 index in anaplastic oligodendroglial tumours-a translational study of the European Organization for Research and Treatment of Cancer Brain Tumor Group. *Histopathology* 2012 May;60(6):885-94.
29. Isolan GR, Ribas Filho JM, Isolan PMBS, Giovanini A, Malafaia O, Dini LI et al. Astrocytic neoplasms and correlation with mutate p53 and Ki-67 proteins. *Arq Neuropsiquiatr* 2005 Dec;63(4):997-1004.
30. Gerdes J, Li L, Schlueter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Gerlach 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 Apr;138(4):867-73.