



ARTÍCULO ORIGINAL

Expresión de EVGF, EVGR2 y eNOS en cordomas. Estudio clínico patológico y de inmunohistoquímica

Martha Lilia Tena-Suck^{a,*}, Citlaltepelt Salinas-Lara^a, Carlos Sánchez-Garibay^b y Katuska Carares^c

^a Departamento de Neuropatología, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez", México D.F., México

^b Doctorado en Investigación en Medicina, Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional, México D.F., México

^c Servicio de Neuroimagen, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez", México D.F., México

PALABRAS CLAVE

Óxido nítrico; EVGF;
EVGFR; Cordomas;
Inmunohistoquímica;
México.

Resumen

Introducción: El cordoma es el más frecuente tumor en la quinta y sexta década de la vida, corresponde a remanentes de la notocorda. El óxido nítrico (NO) desempeña un papel crítico en la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) inducido por la angiogénesis y la hiperpermeabilidad vascular.

Materiales y métodos: En este estudio evaluamos mediante inmunohistoquímica la expresión de EVGF, su receptor (EVGFR2) y sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS), así como el índice de proliferación Ki-67 y de densidad microvascular; en pacientes operados con diagnóstico de cordomas. Histológicamente se clasificaron en tipo clásico o convencional, tipo cordoide y el atípico. Se realiza correlación clínico-patológica.

Resultados: Incluimos a 70 casos de cordomas, 42 (60%) fueron mujeres y 28 (40%) hombres. La edad varió entre 17 a 77 años (con una media de edad de 41.93 ± 15.28 años). El seguimiento fue entre 42.6 ± 16.8 años. La media del tamaño tumoral fue de 37.87 ± 7.12 mm. La invasión cerebral se observó en 47 (67%) casos. La recurrencia fue en 38 (54.3%) casos (15 mujeres y 17 hombres) ($p=0.002$). La localización del tumor fue infratentorial en 15 y base del cráneo en 55 ($p=0.611$). El EVGF fue leve en los cordomas de tipo clásico e intenso en los de tipo cordoide. El EVGFR2 y el eNOS fueron intensamente positivos en el tipo cordoide y negativos en los de tipo clásico, asimismo fue positivo para células endoteliales. Los tumores que presentaban mayor necrosis e inflamación fueron intensamente positivos, que aquellos sin estas condiciones; hubo una correlación estadísticamente significativa, a mayor expresión de EVGFR2 y eNOS mayores índices de proliferación de Ki-67.

Conclusión: La expresión de EVGFR2, eNOS y alto índices de Ki-67 pueden ser de gran utilidad para predecir recurrencia y mal pronóstico en los cordomas. Por lo que estos marcadores podrían ser útiles para poder predecir un mal pronóstico.

* Autor para correspondencia: Departamento de Neuropatología, Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía "Manuel Velasco Suárez". Av. Insurgentes Sur N° 3788, Colonia La Joya, Delegación Tlalpan, México D.F., México. Teléfono: (0155) 5606 3822, ext. 2011. Correo electrónico: mltenasuck@gmail.com (Martha Lilia Tena-Suck).

KEYWORDS

Nitric oxide; EVGF;
 EVGFR;
 Chordomas;
 Immunohistochemis-
 try; Mexico.

EVGF, EVGFR2 and eNOS expression in chordoma. Pathological and immunohistochemical trial

Abstract

Background: Chordoma is the most common tumor in the fifth and sixth decade of life, corresponds to remnants of the notochord. Nitric oxide (NO) plays a critical role in vascular endothelial growth factor (VEGF) induced angiogenesis and vascular hyper permeability.

Method and materials: This study evaluated immunoeexpression of EVGF, EVGFR2 and eNOS, Ki-67-Li and MVD-Li (CD34) in chordoma for association with patient's clinicopathological factors.

Results: Seventy cases were collected for analysis of expression using immunohistochemistry and clinic-pathological correlation. Chordomas were classified into conventional, chordoid and atypical type. Forty-two (60%) cases were females and 28 (40%) male. The aged ranged from 17 to 77 years (mean of 41.93 ± 15.28 years). The average follow-up was 42.6 ± 16.8 years. The mean of tumor sizes was 37.87 ± 7.12 mm. Brain invasion was in 47 (67%) cases. Recurrences was in 38 (54.3%) cases (15 female and 17 male) ($p=0.002$). Tumor localization was 5 infratentorial and 22 in skull base ($p=0.611$). The EVGF was weak in classic chordomas and strong in those chordoid type. The EVGFR2 and eNOS was strongly positive in the negative chordoid type and the classical and mime type was positive for endothelial cells. Tumors that showed necrosis and inflammation were more intensely positive than those who did not and had no statistically significant correlation to increased expression of eNOS and EVGFR2 greater Ki-67 proliferation indices.

Conclusion: EVGFR2 and eNOS and Ki-67-Li are helpful to predict tumor recurrence and prognosis and as potential to serve as prognostic biomarker and therapeutic target for chordoma patients.

1665-9201 © 2014 Gaceta Mexicana de Oncología. Publicado por Masson Doyma México S.A. Todos los derechos reservados.

Introducción

El cordoma es un tumor que se origina a partir de los restos embrionarios de la notocorda, se desarrolla y desaparece durante el desarrollo fetal temprano¹. Comúnmente, se presentan en el sacro, la base del cráneo y la columna vertebral. Los tumores sacros son más agresivos, localmente invasivos y tienen un mal pronóstico. La tasa de recurrencia entre todos los pacientes es del 68%, con un intervalo libre de enfermedad que en promedio es de 45 meses¹, y el tiempo medio de seguimiento es de 39 meses¹. Estas lesiones son a menudo muy difíciles de tratar y a pesar de las resecciones quirúrgicas extensas, tienden a recidivar e invadir^{1,2}. La clave del tratamiento es una combinación de la resección quirúrgica en bloque y terapia de radiación^{1,2}; sin embargo, la base molecular para el comportamiento clínico permanece desconocido³. Los estudios genómicos recientes han identificado la duplicación del gen de Brachyury como una mutación importante en la susceptibilidad de cordomas familiares³. Se ha demostrado que algunos marcadores celulares participan en la tumorigénesis de los cordomas tales como: CD24, ECRG4, RARRES2, IGFBP2, RAP1, HAI2, RAB38, osteopontina, GalNAc-T3, VAMP8, entre otros³, pero poco se sabe sobre el efecto del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la sintasa del óxido nítrico (NOS) en cordomas.

El óxido nítrico (NO) es una molécula de vida media corta que se produce por la enzima conocida como la NOS, en una reacción que convierte la arginina y el oxígeno en

citruilina y NO. El NO participa en el proceso fisiológico y el patológico^{4,6}. Hay 3 isoformas de la enzima: NOS neuronal (nNOS, también llamado NOS1), NOS inducible (iNOS o NOS2) y NOS endotelial (eNOS o NOS3). Ahora se sabe que cada una de estas isoformas actúa de forma diferente y puede ser expresada en una variedad de tejidos y tipos de células⁵⁻⁷. El NO influye en una gran variedad de funciones vitales, incluyendo el tono vascular, la permeabilidad vascular y capilar, y en la neurotransmisión, entre otras. En condiciones de excesiva formación, NO surge como un importante mediador de la neurotoxicidad cerebral y en una gran variedad de trastornos del sistema nervioso central (SNC)^{4,6}. Los inhibidores de la NOS están disponibles y pueden modificar la actividad de todas las isoformas y evaluar indirectamente la actividad enzimática, esto puede ser de relevancia clínica^{4,6}.

El VEGF juega un papel tanto fisiológico como patológico en la angiogénesis^{7,8}. El VEGF promueve la producción del NO, asimismo induce la expresión del eNOS e iNOS *in vitro*⁸. Por lo tanto, la inhibición de la producción de NO *in vivo* es el resultado de la activación del EVGF⁷; éste induce la producción de NO mediante la vía del eNOS. Durante ciertas condiciones patológicas el EVGF produce aumento de los receptores flt-1 y flk-1/KDR⁷⁻¹⁰.

El presente trabajo es un estudio clínico-patológico y de inmunohistoquímica; su objetivo fue determinar la expresión de los EVGF y su receptor 2, y de la eNOS, correlacionándolo con el índice mib-1(Ki-67) y la densidad microvascular (CD34) en cordomas.

Material y métodos

En el Departamento de Neuropatología del Instituto Nacional de Neurología y Neurocirugía, se revisaron los diagnósticos de cordomas que fueron operados durante un periodo de 10 años entre enero de 2001 a diciembre de 2011. Se revisaron los expedientes así como las laminillas, de los bloques de parafina se realizaron las tinciones de inmunohistoquímica. Las variables clínicas fueron: edad, género, localización y tamaño del tumor, recidiva, invasión al tejido cerebral, seguimiento y muerte. Las variables histológicas fueron: tipo histológico (clásico, cordoide, atípico), la invasión al tejido cerebral y/o meninges, los infiltrado inflamatorios, hemorragia, necrosis, figuras de mitosis, atipias y/o pleomorfismo celular. Por inmunohistoquímica se utilizaron los siguientes anticuerpos primarios: EVGF y su receptor (EVGFR2), así como de la eNOS. Se valoraron en leve (+), moderada (++) e intensa (+++), tanto en células endoteliales como en las células tumorales. Se realizaron el índice mib-1 (Ki-67) y el índice de densidad microvascular (CD34), contando el número de células/vasos positivos en 5 campos a 40x, refiriendo un promedio de 1,000 células.

Se realizó estadística descriptiva, se evaluó la edad, seguimiento, tamaño del tumor, índice mib-1 y densidad microvascular, se obtuvieron valores de la media y derivación estándar. Para el resto de las variables clínicas como histológicas, se valoran en número y porcentaje. Se realizó

también coeficiente de correlación de Pearson y Spearman para las variables cuantitativas y cualitativas, respectivamente. Se correlacionó la expresión de los marcadores celulares con las variables clínicas y patológicas. Se tomaron como estadísticamente significativos valores de $p < 0.5$.

Resultados

Se incluyeron 70 casos de cordomas en este estudio, 42 (60%) fueron mujeres y 28 (40%) hombres. La edad varió entre 17 a 77 años (con una media de 41.93 ± 15.28 años) (figs. 1A y 1B). La media del tamaño tumoral fue de 37.87 ± 7.12 mm. La invasión cerebral se observó en 47 (67%) casos. La localización del tumor fue infratentorial en 15 y base del cráneo en 55 ($p=0.611$) (fig. 1C). La recurrencia sucedió en 38 (54.3%) casos (15 mujeres y 17 hombres) ($p=0.002$) (fig.1D). El seguimiento fue entre 42.6 ± 16.8 años. En la tabla 1 se observan los resultados clínicos epidemiológicos de los pacientes con cordomas.

En la tabla 2 se presentan los resultados de histología (fig. 2). El cordoma de tipo clásico fueron 50 (71%) (figs. 2A y 2B), y de tipo cordoide fueron 20 (29%) (figs. 2C y 2D). En la tabla 3 se evidencian los resultados de la inmunohistoquímica; el EVGF fue leve en los cordomas de tipo clásico e intenso en los de tipo cordoide (figs. 3A y 3C). El EVGFR2 (figs. 3D y 3F) y el eNOS (figs. 3G y 3H) fueron intensamente positivos

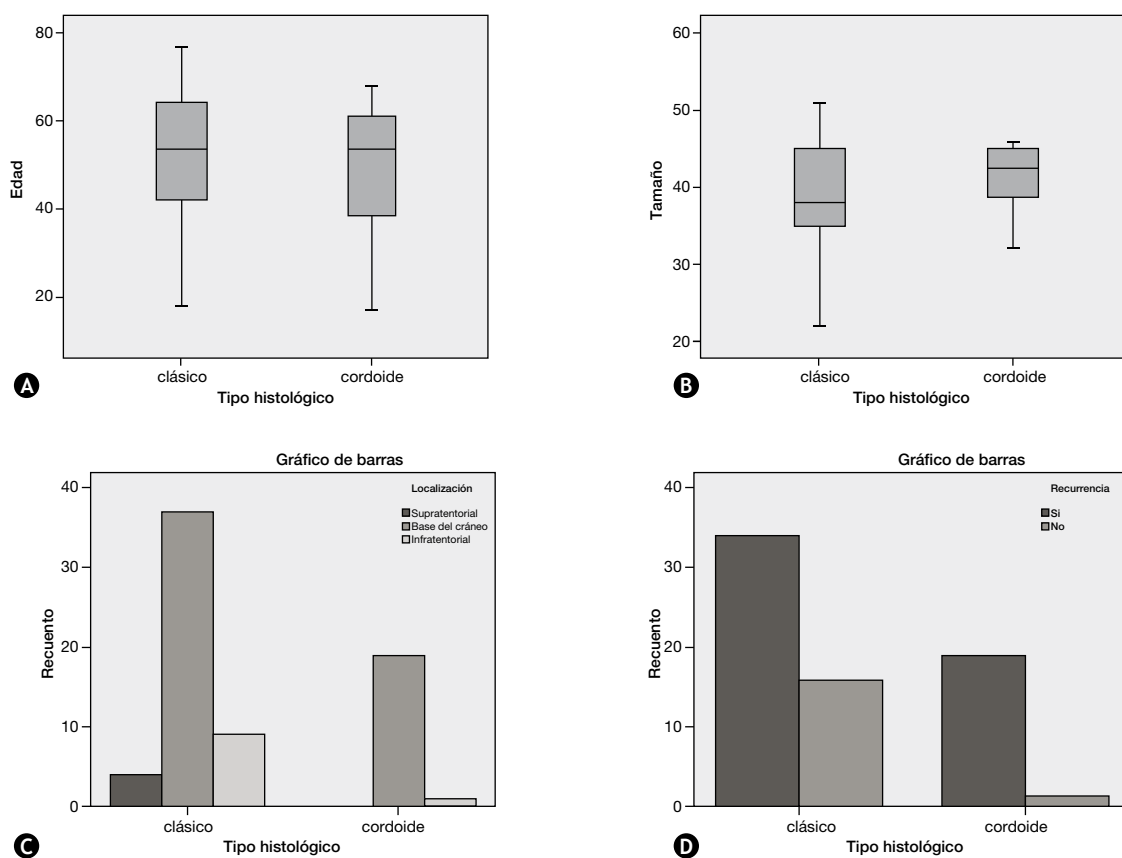


Figura 1 A) Cajas y bigotes entre la relación edad con el tipo histológico, y B) tamaño del tumor y el tipo histológico. C) Histograma que muestra la relación entre el tipo histológico y la localización del tumor. D) Histograma entre el tipo histológico y recurrencia.

Tabla 1 Hallazgos clínicos de los pacientes operados con diagnóstico de cordomas

	Tipo clásico N=50 (%)	Tipo cordoide N=20 (%)	p
Edad	53.50 años	54 años	0.527
Mujeres	37 (74)	9 (45)	0.089
Hombres	23 (46)	11 (55)	
Localización del tumor			
Supratentorial	4 (8)	0	0.051
Infratentorial	9 (18)	1 (5)	
Base del cráneo	37 (74)	19 (95)	
Tamaño del tumor	39.24 ± 5.759	41.15 ± 3.668	0.375
Recurrencia	34 (68)	19 (95)	0.014
Muerte	14 (28)	2 (10)	0.092
Seguimiento	12 meses	12 meses	0.350
Exéresis			
Parcial	38 (76)	12 (60)	0.148
Completa	12 (24)	8 (40)	
Radioterapia	35 (70)	11 (55)	0.179

La edad y el tamaño del tumor se valoraron por media y derivación estándar; en el seguimiento se valoró la mediana. El valor de *p* se obtuvo mediante la correlación de Pearson y Spearman para las variables cuantitativas y cualitativas, respectivamente.

en el tipo cordoide y negativos en los de tipo clásico, asimismo fueron positivo para células endoteliales. La edad de los pacientes se correlacionó con el género ($p=0.004$), el género con la recurrencia ($p=0.023$), muerte de los pacientes ($p=0.000$), hemorragia ($p=0.007$), y pleomorfismo ($p=0.002$). El tamaño del tumor se correlacionó con la expresión de eNOS ($p=0.026$), localización del tumor ($p=0.010$), expresión de EVGFR2 ($p=0.000$), e inflamación ($p=0.002$).

Los tumores que presentaban mayor necrosis e inflamación fueron intensamente positivos para eNOS que aquellos que no lo presentaban; hubo una correlación estadísticamente significativa, a mayor expresión de EVGFR2 y eNOS mayor aumento de los índices mib-1 (Ki-67).

Discusión

Los cordomas son tumores de crecimiento lento y con frecuencia se localizan en el sacro y clivus. Estos surgen de la región sacrococcígea aproximadamente en el 50% de los casos, de la zona esfenoccipital en 35% y la columna vertebral en el 15%¹. Es más frecuente en hombres que en mujeres, quienes se ven afectadas por cordoma sacro, sin embargo, los de la base del cráneo parecen ocurrir con igual frecuencia en hombres y mujeres¹⁰; en nuestra serie fue más frecuente en mujeres que en hombres. Las recidivas múltiples son frecuentes. Los cordomas infantiles son infrecuentes y a menudo muestran un comportamiento excepcionalmente agresivo. Se ha discutido sobre el seguimiento

Tabla 2 Muestra los hallazgos histopatológicos en relación al tipo histológico

	Tipo clásico N=50	Tipo cordoide N=20	p
Inflamación			
Leve	17 (34)	0	0.000
Moderada	0	5 (25)	
Intensa	0	15 (75)	
Ausente	33 (66)	0	
Necrosis			
Leve	16 (32)	0	0.000
Moderada	1 (2)	0	
Negativa	33 (66)	20 (100)	
Hemorragia	34 (68)	19 (95)	0.008
Hialinización de vasos	24 (48)	13 (65)	0.154
Atipias celulares	20 (40)	19 (95)	0.080
Pleomorfismo	34 (68)	20 (100)	0.018
Mitosis	0.80 ± 1.13	0.45 ± 0.887	0.450
Invasión al tejido cerebral	34 (68)	19 (95)	0.008

El valor de *p* se obtuvo mediante la correlación de Pearson y Spearman para las variables cuantitativas y cualitativas, respectivamente.

de los pacientes que va de 6 a 142 meses (con una media de 59.6 meses) de acuerdo a los resultados de Ouyang T et al.¹¹, y de 56.5 meses en la serie de Yasuda M et al.¹². Los estudios previos sobre cordomas se han centrado bien sea en la cirugía, la radioterapia, o particulares de localizaciones tumorales. La tasa de la supervivencia libre de progresión (SLP) y la supervivencia general (SG) a 5 años se ha descrito del 70% y 83.4%, respectivamente. La metástasis se han observado en un 12.5%¹²; en nuestra serie el seguimiento tuvo una mediana de 12 meses para ambos tipos histológicos, con una mediana de sobrevida de 47 meses, y una recurrencia de 34 (68%) para el tipo clásico y de 19 (95) para el tipo cordoide ($p=0.014$).

El estudio inmunohistoquímico es útil en el diagnóstico diferencial, estos tumores generalmente expresan citoqueratinas, antígeno membrana epitelial (EMA), proteína S100, vimentina, gen de Brachyury y EGFR¹⁰. Los cordomas pediátricos por lo general expresan mayor p53 y altos índices mib-1, así como pérdida de la expresión de INI1 en comparación con los adultos¹³. La expresión para Brachyury, galectina-3 y Ki-67 sería de gran ayuda para el diagnóstico diferencial con la *Ecchordosis physaliphora* y meningioma cordoide¹³. El índice mib-1 en los cordomas generalmente es bajo, a pesar de ser tumores que tienden a comportarse agresivamente. Índices mib-1 mayores de 5% se han asociado a rápido crecimiento, recurrencia a corto plazo y peor pronóstico^{13,14}. Nosotros observamos que los tumores que tenían altos índices mib-1 o índices mayores a 5%, se asociaron a invasión, recurrencia y muerte; siendo de 2.16% ± 1.67% para el tipo clásico y 5.810% ± 1.861% para el tipo cordoide ($p=0.000$).

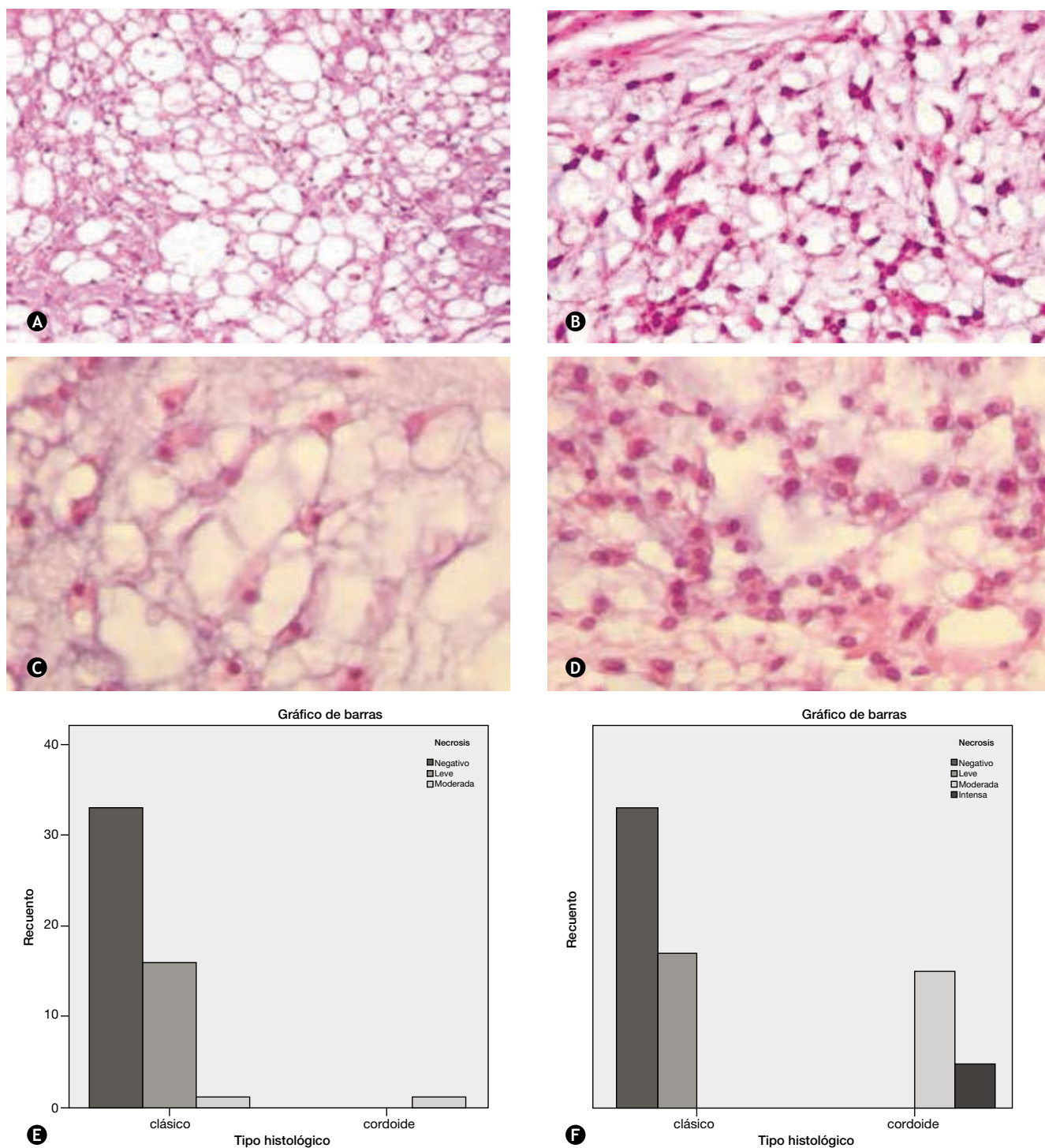


Figura 2 Hallazgos histológicos. **A)** Característica del cordoma clásico (H&E, 200x). **B)** Acercamiento de las células fisalíferas (H&E, 400x). **C)** Características del cordoma cordoide (H&E, 200x). **D)** Acercamiento de las células eosinófilas (H&E, 400x). **E)** Histograma en relación de necrosis y el tipo histológico. **F)** Histograma entre la relación infiltrado inflamatorio y el tipo histológico.

La hipoxia es una característica de todos los tumores sólidos. Bajo condiciones de hipoxia, las células tumorales son privadas de oxígeno debido a un suministro limitado de sangre resultante de la microvasculatura anormal del tumor^{15,16}. La subunidad alfa del factor 1 inducible por hipoxia (HIF-1 α) es un factor de transcripción que regula las rutas implicadas en la supervivencia

celular tumoral, proliferación celular, angiogénesis, invasión y metástasis¹⁵. Además, HIF-1 α activa directamente la expresión de un número de factores proangiogénicos, incluyendo el VEGF y la metaloproteinasa de matriz 2 (MMP-2)¹⁷. La expresión de VEGF mediante hipoxia se considera que es un inductor principal de la angiogénesis tumoral¹⁷.

Tabla 3 Muestra los resultados de la inmunohistoquímica en relación al tipo histológico

	Tipo clásico N=50 (%)	Tipo cordoide N=20 (%)	p
Ki-67	2.16 ± 1.670	5.810 ± 1.861	0.000
Densidad microvascular	39.34 ± 5.759	41.15 ± 4.378	0.323
EVGF			
Leve	11 (22)	6 (30)	0.016
Moderado	34 (68)	10 (20)	
Intenso	5 (10)	4 (40)	
EVGFR2			
Leve	5 (10)	0	0.202
Moderado	21 (42)	4 (40)	
Intenso	24 (48)	14 (70)	
eNOS			
Leve	17 (34)	0	0.000
Moderado	0	15 (75)	
Intenso	0	5 (25)	
Negativo	33 (66)	0	

El valor de *p* se obtuvo mediante la correlación de Pearson y Spearman para las variables cuantitativas y cualitativas, respectivamente.

La expresión de HIF-1 α se correlaciona con la de VEGF y densidad microvascular en varios tipos de tumor. Por tanto, existe una correlación entre la expresión de HIF-1 α , VEGF y MMP-2 en los cordomas, así como el proceso angiogénico se considera una diana terapéutica potencial para cordomas¹⁸. También se ha demostrado que HIF-1 α se expresa en los cordomas y se correlaciona con la proteína asociada a la resistencia a múltiples fármacos 1 (MRP1)¹⁹. Xi-L et al.¹⁹, observó que la expresión de VEGF se asoció significativamente con densidad microvascular, mientras que los niveles de expresión de HIF-1 α y MMP-2 no se asociaron significativamente con el índice de densidad microvascular, por lo tanto sus resultados demostraron que existe una correlación entre la expresión de HIF-1 α , VEGF y MMP-2 en los cordomas y que la angiogénesis puede ser un agente terapéutico potencial en estos. En nuestro trabajo observamos que los índices de densidad microvascular fueron mayores en los tumores que recidivaron (de tipo cordoide), y aún mayores en el tipo atípico y en aquellos que presentaban mayor necrosis e inflamación^{20,21}.

La angiogénesis es un evento temprano en la carcinogénesis y una de las características distintivas de los tumores²². La neovascularización es crítica para la progresión del tumor, el suministro de oxígeno y nutrientes se ve limitado en las células tumorales. La angiogénesis es un proceso de múltiples pasos que incluye la degradación de la membrana basal, la migración de células endoteliales, la germinación en el espacio intersticial, la proliferación de células endoteliales, la formación del lumen y nueva membrana basal y la formación de la anastomosis¹⁶. Es ampliamente aceptado que la expresión de VEGF está mediada por HIF-1 α en condiciones de hipoxia. La media y desviación estándar del índice de densidad microvascular fue 39.34 ± 5.759 para el tipo

clásico y 41.15 ± 4.378 para el tipo cordoide, aunque no fue estadísticamente significativo (*p*=0.323).

Es bien conocido que el VEGF y el NO incrementan la permeabilidad vascular, la formación de vasos y la circulación de macromoléculas que participan en la angiogénesis¹⁻³. El incremento de la permeabilidad vascular se ha observado en ciertos tumores sólidos, inflamación crónica, extravasación de proteínas, formación de fibrina, alteración de la matriz extracelular; esto puede estar mediado por cambios isquémicos, de perfusión, por lo que mantienen la integridad vascular. Por lo tanto, la actividad de EVGF es mediada por eNOS. Como resultado se observa que la sobreexpresión de eNOS, el cual es un Ca⁺² dependiente contribuye a la expresión de EVGF. La expresión de eNOS está regulada por la proteína quinasa Akt¹⁵⁻¹⁸. Las células endoteliales sobreviven por la acción del EVGF, las cuales son reguladas por sus receptores (flk-1/KDR) y fosforiladas por la vía de la transducción de fosfoinositida 3-quinasa^{18,19}. En nuestros casos, la expresión del eNOS en el tipo clásico leve fue 17 (34%) y negativa en 33 (66%), mientras que para el tipo cordoide, la reactividad fue moderada en 15 (75%) e intensa en 5 (25%), ninguno fue negativo.

La expresión de eNOS puede ser un indicador útil putativo para tumores cerebrales. La mayor expresión de eNOS se observa en células endoteliales de tumores gliales; en las metástasis se plantea la posibilidad de que la producción de NO se asocie al flujo de sangre del tumor, y posiblemente a edema cerebral²⁰. Broholm H et al.²⁰ observó que la actividad y expresión de NOS no se correlacionó con los hallazgos clínicos como el edema cerebral. En patologías de tipo inflamatorias, infecciosas, isquémicas y/o neurodegenerativas del SNC, la glía "se activa" por mediadores inflamatorios, que expresan nuevas proteínas, tales como la isoforma inducible de la iNOS²⁰. El NO de la iNOS parece ser una llave mediadora de dicha muerte neuronal inducida por la glía. La alta sensibilidad de las neuronas a NO se debe en parte a que provoca una inhibición de la respiración, la liberación de glutamato rápida de ambos astrocitos y neuronas, y la muerte excitotóxica posterior de la neuronas^{20,21}. El NO es un potente inhibidor de la respiración mitocondrial, debido a la reversible unión del NO a la citocromo oxidasa en la competencia por el oxígeno, lo que resulta en la inhibición de la producción de energía y la sensibilización a la hipoxia^{20,21}. El NO inhibiendo la citocromo oxidasa dentro de las neuronas, resulta en el agotamiento de ATP y la liberación de glutamato²⁰. En algunas condiciones, la muerte neuronal inducida por sí misma puede ser mediada por N-metil-D-aspartato (NMDA) del receptor de la isoforma neuronal de la nNOS causando daño mitocondrial. Además, NO puede ser convertido a un número de reactivos derivados tales como peroxinitrito, NO₂, N₂O₃ y S-nitrosotioles que puede matar las células, en parte por la inhibición de la respiración mitocondrial o la activación de transición de la permeabilidad mitocondrial, la activación de la apoptosis neuronal o la necrosis^{20,21}.

La expresión de nNOS se ha observado en las células tumorales de la glía, siendo más intensa en los tumores de alto grado (III, IV de la Organización Mundial de la Salud [OMS]), así como en carcinomas y metástasis de melanoma. Los gliomas de bajo grado (I y II de la OMS) y meningiomas

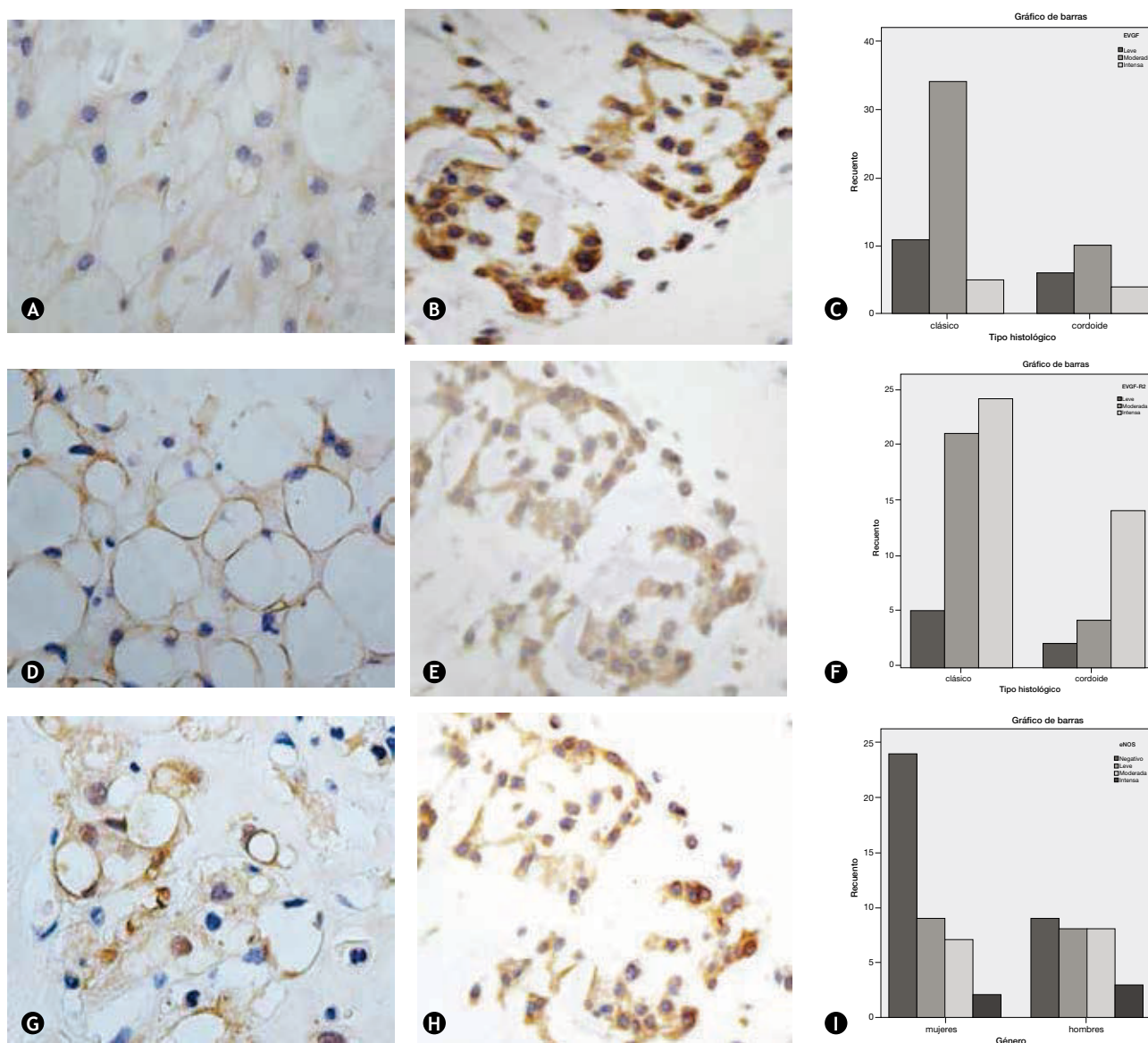


Figura 3 Hallazgos de inmunohistoquímica. **A)** Expresión de EVGF en cordoma clásico y **B)** en cordoma cordoide. **C)** Histograma que muestra la expresión del EVGF2 con el tipo histológico. **D)** Expresión de EVGF2 en cordoma clásico y **E)** en cordoma cordoide. **F)** Histograma que muestra la expresión del EVGF2 con el tipo histológico. **G)** Expresión de eNOS en cordoma clásico y **H)** en cordoma cordoide. **I)** Histograma que muestra la expresión del eNOS con el tipo histológico.

expresando ninguna o poca nNOS²⁰. iNOS sólo se ha observado en algunos tumores. eNOS se ha registrado de forma esporádica en las células tumorales, mientras que la expresión se aumenta en las células endoteliales vasculares tanto en el tumor como en la zona peritumoral, además en gliomas y metástasis; también en células endoteliales de meningiomas²⁰⁻²².

Akhavan-Sigari R et al.²³ demostró que la mayoría de los cordomas se correlacionan con la expresión iNOS, EVGF2 con niveles altos de índices mib-1Ki. Nosotros observamos que la expresión del EVGF fue leve en los cordomas de tipo clásico e intenso en los de tipo cordoide. El EVGF2 y el eNOS fueron intensamente positivos en el tipo cordoide y negativos en los de tipo clásico, asimismo fueron positivos para células endoteliales. Los tumores que presentaban

mayor necrosis e inflamación fueron intensamente positivos que los que no lo presentaban; hubo una correlación estadísticamente significativa, a mayor expresión de EVGF2 y eNOS mayores índices de proliferación de Ki-67.

Conclusiones

La expresión de EVGF, EVGF2 y eNOS en cordomas puede ser un marcador de mal pronóstico que está dado por factores de hipoxia, esto se correlaciona con mal pronóstico.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Financiamiento

Los autores no recibieron patrocinio para llevar a cabo este artículo.

Referencias

- Jian BJ, Bloch OG, Yang I, et al. Adjuvant radiation therapy and chondroid chordoma subtype are associated with a lower tumor recurrence rate of cranial chordoma. *Neurooncol* 2010;98:101-108.
- Yoneoka Y, Tsumanuma I, Fukuda M, et al. Cranial base chordoma long term outcome and review of the literature. *Acta Neurochir (Wien)* 2008;150:773-778;
- Kanwar JR, Kanwar RK, Burrow H, et al. Recent advances on the roles of NO in cancer and chronic inflammatory disorders. *Curr Med Chem* 2009;16:2373-2394.
- Scheil-Bertram S, Kappler R, von Baer A, et al. Molecular profiling of chordoma. *Int J Oncol* 2014;44:1041-1055.
- Carmeliet P, Jain RK. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 2000;407:249-257.
- Hood JD, Meininger CJ, Ziche M, et al. VEGF upregulates eNOS message, protein, and NO production in human endothelial cells. *Am J Physiol* 1998;274:H1054-1058.
- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor. *Eur J Cancer* 1996;32A:2413-2422.
- Yan X, Cheng X, Liu J, et al. Clinicopathological evaluation of immunohistochemical Ki-67 and endothelial nitric oxide synthase expression in intracranial ependymoma. *Clin Invest Med* 2008;31:E206-11.
- Broholm H, Rubin I, Kruse A, et al. Nitric oxide synthase expression and enzymatic activity in human brain tumors. *Clin Neuro-pathol* 2003;22:273-281.
- McMaster ML, Goldstein AM, Bromley CM, et al. Chordoma: incidence and survival patterns in the United States, 1973-1995. *Cancer Causes Control* 2001;12:1-11.
- Ouyang T, Zhang N, Zhang Y, et al. Clinical Characteristics, Immunohistochemistry, and Outcomes of 77 Patients with Skull base chordomas. *World Neurosurg* 2013;S1878-8750(13)00017-X.
- Yasuda M, Bresson D, Chibbaro S, et al. Chordomas of the skull base and cervical spine: clinical outcomes associated with a multimodal surgical resection combined with proton-beam radiation in 40 patients. *Neurosurg Rev* 2012;35:171-182.
- Yadav R, Sharma MC, Malgulwar PB, et al. Prognostic value of MIB-1, p53, epidermal growth factor receptor, and INI1 in childhood chordomas. *Neuro Oncol* 2014;16:372-381.
- Wang L, Wu Z, Tian K, et al. Clinical and Pathological Features of Intradural Retroclival Chordoma. *World Neurosurg* 2013;S1878-8750:00314-8.
- Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, et al. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol* 1996;16:4604-4613.
- Bussolino F, Mantovani A, Persico G. Molecular mechanisms of blood vessel formation. *Trends Biochem Sci* 1997;22:251-256.
- Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, et al. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol* 1996;16:4604-4613.
- Li X, Ji Z, Ma Y, et al. Expression of hypoxia-inducible factor-1 α , vascular endothelial growth factor and matrix metalloproteinase-2 in sacral chordomas. *Oncol Lett* 2012;31:268-1274.
- Ji Z, Long H, Hu Y, et al. Expression of MDR1, HIF-1 α and MRP1 in sacral chordoma and chordoma cell line CM-319. *J Exp Clin Cancer Res* 2010;29:158-161.
- Brown GC, Bal-Price A. Inflammatory neurodegeneration mediated by nitric oxide, glutamate, and mitochondria. *Mol Neurobiol* 2003;27:325-355.
- Brown GC. Mechanisms of inflammatory neurodegeneration: iNOS and NADPH oxidase. *Biochem Soc Trans* 2007;35:1119-1121.
- Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al. Tumor angiogenesis and metastasis - correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* 1991;324:1-8.
- Akhavan-Sigari R, Gaab MR, Rohde V, et al. Expression of vascular endothelial growth factor receptor 2 (VEGFR-2), inducible nitric oxide synthase (iNOS), and Ki-M1P in skull base chordoma: a series of 145 tumors. *Neurosurg Rev* 2014;37:79-88.