

Ю. П. Зозуля, М. С. Кваша, Т. А. Малишева, В. В. Дмитренко\*, В. М. Кавсан\*

Державна установа “Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України”, 04050 Київ  
\*Інститут молекулярної біології і генетики НАН України, 03680 Київ

## ЗМІНИ ЕКСПРЕСІЇ ГЕНІВ У МЕНІНГІОМАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА ЇХ КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ (огляд літератури та власних досліджень)

Наведено дані літератури та власних досліджень щодо цитогенетичних аномалій і змін експресії генів у менінгіомах головного мозку, що свідчать про особливості пато- і морфогенезу формування різних субтипів цих новоутворень. Принциповим є не лише визначення певних гістологічних критеріїв, а й оцінка ознак, що виявляються сучасними методами (морфологічними, молекулярними й генетичними). Встановлені особливості розподілу рецепторів стероїдних гормонів та проліферативної активності менінгіом сприяють оптимізації та індивідуалізації лікувальних схем й прогнозу.

**Ключові слова:** менінгіоми головного мозку — гістологічні варіанти, молекулярно-генетичні зміни, гормонозалежність.

Менінгіоми головного мозку (МГМ) — пухлини його оболонки, які походять із клітин менінготелію оболонки і судинних сплетень шлуночків головного і спинного мозку. Згідно із класифікаційними критеріями ВООЗ, МГМ розглядаються як гістологічно однорідна група (шифр за МКХ-10: D32.0 — типові, атипіві, C70.1 — анапластичні) [40].

МГМ становлять 13-26 % усіх первинних пухлин головного мозку і є найчастішими інтракраніальними новоутвореннями його оболонки [6, 10, 31, 42, 46].

Частота МГМ за даними CBTRUS (*Central Brain Tumor Registry of the United States*) за 2006-2010 роки складає 7,44 випадків на 100 тис. населення [40].

МГМ розвиваються переважно у дорослих з піком захворюваності в 40-60 років із співвідношенням чоловіків і жінок від 1:2 до 1:4, що свідчить про їх залежність від змін ендокринно-метаболічних впливів [31, 40].

Термін “менінгіома” запропонований ще у 1922 р. *H. Cushing* [21], проте з’ясування гістобіологічних особливостей цих новоутворень і сьогодні є актуальною медико-соціальною проблемою. Думка щодо існування виключно доброякісних форм менінгіом, висловлена *H. Lebert*, який запропонував називати їх фібробластичними пухлинами (*tumeur fibro-plastique*) (цит. за [12]), сьогодні обґрунтовано ставиться під сумнів. Поряд з доброякісними менінгіомами можуть бути первинно-множинними та рецидивуючими. Ряд дослідників вважають МГМ злоякісними новоутвореннями [12, 31, 41]. Множинні МГМ у пацієнтів старших вікових груп зустрічаються у 8 % випадків [6, 8, 40]. Радикальне видалення МГМ значних розмірів, особливо базальної локалізації або інвазивних їх варіантів із інтра- та екстракраніальним поширенням — складна міждисциплінарна проблема [1, 4, 6].

Власні клінічні та патоморфологічні спостереження свідчать про значну гетерогенність МГМ,

Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова НАМН України

Ю. П. Зозуля — радник адміністрації Інституту, акад. НАН та НАМН України

М. С. Кваша — с.н.с. відділу нейроонкології, д.м.н.

Т. А. Малишева — начальник відділу нейропатоморфології, д.м.н. (morpho.neuro@gmail.com)

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України

Відділ біосинтезу нуклеїнових кислот

В. М. Кавсан — зав. відділу, чл.-кор. НАН України

В. В. Дмитренко — провідн.н.с., д.б.н.

© Ю. П. Зозуля, М. С. Кваша, Т. А. Малишева, В. В. Дмитренко, В. М. Кавсан, 2013.

що співпадає з поліморфізмом перебігу захворювання і неоднозначною їх відповіддю на лікування. Наш досвід доводить, що рецидиви або подовжений ріст менінгіом виникають і після радикальних операцій не лише злоякісних а і їх типових диференційованих форм [4]. Частота рецидивів після хірургічного видалення коливається від 16-24 % до 40-98 % [6, 8, 40]. Незважаючи на технічне й методологічне удосконалення нейрохірургічної техніки, частота рецидивів МГМ залишається високою, у зв'язку з чим МГМ характеризують як "фатально рецидивуючі пухлини" [31, 40, 46].

Патогенез індукції, прогресії та інвазії МГМ у речовину головного мозку, кістки черепа, м'язи, черепні нерви і слизові оболонки з урахуванням пролонгації хвороби потребує комплексної патогістологічної оцінки із залученням новітніх молекулярно-генетичних методів дослідження та з'ясуванням структурних особливостей МГМ, які мають прогностичне значення.

За даними суто морфологічних досліджень, менінгіоми розподіляють і класифікують переважно за критеріями їх злоякісності [8, 10, 31]. У класифікації ВООЗ 2007 р. переважна більшість гістологічних варіантів МГМ належить до доброякісних форм [40]. Невідповідність між гістологічними критеріями ступеня злоякісності інвазивних менінгіом та їх агресивною біологічною поведінкою передбачає наявність молекулярних механізмів, які є основою цього феномену. За показниками лише проліферації неможливо скласти вірогідної уяви про біологічну поведінку диференційованих форм МГМ [8, 14, 31, 40].

Клітини нормальних мозкових оболонок та пухлини, що походять з них, морфологічно і функціонально різні, проте проявляють певну морфогенетичну схожість і мають як мезенхімальні, так і епітеліальні риси. Передбачається можливість пухлинної трансформації із подальшим розвитком МГМ як з клітин арахноендотелію, так і їх стовбурових клітин, проте процес менінготеліальної гіперплазії на даний час вивчено недостатньо [44, 46].

В останнє десятиріччя значно зросла кількість досліджень, присвячених вивченню молекулярних порушень, у т. ч. кількісної оцінки експресії окремих генів, з'ясуванню взаємозалежності молекулярних змін та пухлинної прогресії [7, 50]. Набуває поширення епігенетична класифікація менінгіом на основі епігенетичного скринінгу всього геному пухлини із застосуванням технології мікрочипів [28].

Подальше вивчення біомолекулярних та генетичних змін внутрішньочерепних пухлин сприятиме підвищенню ефективності їх прогнозу та стратегії лікування різних молекулярних підгруп одного й того ж гістологічного варіанту МГМ.

### Молекулярно-генетичні зміни, характерні для внутрішньочерепних менінгіом

Сучасні молекулярні методи дозволили виявити поліморфізм довжини фрагментів хромосом, що дало можливість проаналізувати і картографувати хромосоми у пацієнтів із менінгіомами. Аналіз ДНК за допомогою мікроматриць дозволяє одночасно досліджувати численні аберації геному [46, 51].

За даними літератури, низка первинних хромосомних змін лежить в основі онкогенезу менінгіом [31, 41]. Описана втрата кількох хромосомних ділянок, які містять пухлинні гени-супресори (*RUNX1* та *MSH2*). Останній є геном, який пов'язаний зі сімейною онкопатологією. Ампліфікації *MSH2* описані майже у половині спостережень менінгіом. Часто серед них зустрічаються втрати на хромосомах *3p*, *6q*, *X* і *Y*, а також добавки генетичного матеріалу на *1q*, *9q*, *12q*, *15q* і *20q* хромосомах [1, 12, 40, 51].

На сьогодні вже описані мутації 374 генів, асоційованих із виникненням гормонозалежних пухлин [2, 5]. Найбільш відомі з них: *P53*, *ATM*, *PTEN*, *MSH6*, *MLH1*, *MYC*, *CHEK2* [51]. Генетичні зміни виявлено в локусах, які містять потенційні пухлиносупресорні гени (*BIN1*, *APC*, *DRIM*, *FRA16D*, *BRCA1/2*) і онкогени (*THRB*, *PIK3CA*, *HRAS*, *RPS6KB1*) [17, 40].

Серед МГМ, зокрема їх інвазивних варіантів, виявлено переважання геномних добавок, що включають гени, білкові продукти яких залучені до активації транскрипції генів та регуляції клітинного циклу й мітозу (*TIF1*, *E2F5*, *PAK1*, *WNTT*, *TOP1*), а також виконують функції факторів росту (*FGFR1*, *ERBB2*) та компоненти позаклітинного матриксу (*ELN*, *LAMA3*) [44]. Деякі дослідники пропонують вважати *MN1* геном-супресором, перспективним для прогнозу подальшого перебігу гормонозалежних пухлин [5, 12, 19]. Делеція цього гена асоційована з прогресією доброякісних МГМ і корелює із топографічними варіантами [32]. Значущість цих аберацій для прогнозу перебігу МГМ потребує подальшої деталізації.

З розвитком менінгіом асоціюються такі генетичні синдроми: синдроми Коудена (*Cowden syndrome — Multiple hamartoma syndrome*), Горліна (*Gorlin — Nevoid basal cell carcinoma syndrome*), Лі — Фраумені (*Li — Fraumeni*), Туркота — Гарденера (*Turcot — Gardener*) і хвороба Гіппель — Ліндау (*Hippel — Lindau*). Достовірно не доведено, чи є ці асоціації випадковими або системними [1, 25]. Менінгіоангіоматоз — пошкодження клітин м'якої мозкової оболонки, яке описано як спорадичні спостереження або асоційовані із нейрофіброматозом 2 типу (НФ2) [24, 28, 30, 33, 42].

Хоча більшість МГМ є спорадичними, вірогідно доведена роль генетичного фактора при НФ2, оскільки для гена *NF2* доведена роль “подвійного удару”, при якому кожна клітина містить одну інактивовану копію гена [1, 51]. При вивченні сімейних випадків МГМ виявлена транслокація із залученням хромосом 14 й 22. Додаткова гіподиплоїдність спостерігається частіше в хромосомах 14, 17 та Y. Зміни із залученням локуса *NF2* можуть бути крапковими мутаціями, а отже надскладними для ідентифікації й системного аналізу [21]. Мутацію гена *NF2*, локалізованого на довгому плечі 22-ої хромосоми (22q12), виявлено у понад 60 % спорадичних МГМ [21, 24, 51].

У різних гістологічних варіантах МГМ частота мутацій гена *NF2* значно коливається. У змішаних та фібробластичних варіантах МГМ вона сягає 80 %, а у менінгіоматозних — лише 25 % [1, 8, 20]. Менінгіоми пов'язують з моносомією 22-ої хромосоми [24].

Наслідком мутації гена *NF2* є порушення синтезу білка мерліна [47, 50]. Ролі порушень у локусі гена *NF2* присвячений ряд досліджень [21, 23, 33, 46, 50]. Таким чином, більшість дослідників пов'язують виникнення МГМ із пошкодженням специфічного гена, розташованого у хромосомі 22 — “гена менінгіоми”.

У розвитку менінгіоми істотну роль відіграють втрати ділянки хромосоми 22q, не пов'язані з *NF2*, у т. ч. *AP1B1/BAM22* [46], *MN1* [15] і *SMARCB1 (INI1/hSNFS)* [1]. Одночасно з пошкодженням “гена менінгіоми” можливі генетичні дефекти на хромосомах 1p, 3p, 6q, 7q, 8, 9p, 10q, 14q, що впливають на біологічну поведінку і морфологічні характеристики пухлин. Описані значні цитогенетичні відмінності між інвазивними та неінвазивними МГМ. Середня сумарна кількість хромосомних аберацій була значно вище в інвазивних варіантах пухлин [1, 8, 15, 17, 46]. Припускають, що виникнення значної кількості генетичних аберацій складає молекулярну основу агресивного росту гістологічно доброякісних менінгіом [42].

Частота делецій на хромосомі 1p вища в атипичних та анапластичних менінгіомах [31]. Інактивація гена *EPB41* як пухлиносупресорного гена, локалізованого на хромосомній ділянці 1p33, також виявлена у МГМ [45]. Численні делеції й добавки у ділянці 1p асоціюють зі складним перерозподілом геному [20]. Одна з делецій локалізована у ділянці 1p36.33 та включає ген *TP73* [36]. У районі іншої делеції розташований ген *FGR* (1p36.2-p36.1), який є гомологом вірусного онкогена. Імовірно за все, інактивація інших пухлиносупресорних генів, локалізованих поблизу *TP73* та *FGR*, впливає на агресивність біологічної поведінки менінгіом [12, 38].

Втрата хромосоми 14q є третьою (після порушень хромосом 22q і 1p) за частотою аберацій, виявлених у менінгіомах. В одному з недавніх досліджень показано, що делеції на цьому плечі хромосоми є незалежним параметром несприятливого прогнозу, який у поєднанні з гістологічним ступенем злоякісності і віком пацієнта свідчить про підвищення ризику рецидиву пухлини [34].

Методами молекулярної діагностики встановлено, що інвазивні менінгіоми характеризуються частими делеціями 1p, 6q, 9q та 14q й добавками на хромосомах 15q та 20, які раніше пропонували вважати молекулярною ознакою злоякісної трансформації МГМ [31, 51]. Крім того, делеція 14q при доброякісних МГМ відображає їх властивість рецидивувати. Добавки на хромосомах 18q та 20 виявлені переважно в інвазивних варіантах МГМ [1].

Делеції хромосоми 9p21 було ідентифіковано у клітинах менінгіом за допомогою гібридизації з парними комерційними пробами до центромерної ділянки хромосоми 9 (*CEP9*) та ділянки 9p21, в якій локалізований ген *CDKN2A*, що кодує білок p16. Гібридизація типової клітини з цією аномалією проявляється у вигляді двох колокалізаційних сигналів зеленого кольору (2Y), які знаходяться на похідних хромосоми 9p21, та одного червоного сигналу (1R), який знаходиться на нормальній хромосомі 9 [41]. Картина гібридизації при типовій делеції на ділянці 9p21 в одній хромосомі позначається як 2Y1R. Набір сигналів 1Y1R свідчить про повну втрату однієї з хромосом 9 — гемізиготну делецію. Гомозиготна делеція обох копій хромосоми 9 проявляється у вигляді відсутності гібридизаційних сигналів у клітинах [46].

Співставлення частоти виявлення гомозиготної делеції 9p21 із ступенем злоякісності менінгіом показало, що вона зустрічається лише в анапластичних менінгіомах III ступеня злоякісності. Крім того, делеція короткого плеча 9-ї хромосоми статистично достовірно корелює із несприятливим прогнозом — високою вірогідністю рецидиву пухлини. *FISH (Fluorescence In Situ Hybridization)*-аналізом виявлені гомо- і гемізиготні втрати 9-ї хромосоми у 31 % хворих із прогресією пухлини і у 9,5 % випадків — без рецидивів. Делеція локусу 9p21, або моносомія 9-ї хромосоми, була виявлена переважно у пацієнтів із рецидивами МГМ [1, 8, 20, 31].

У 1998 р. групою лабораторної генетики клініки Мейо (США) у співробітництві з “Vysis Inc.” були розпочаті роботи зі створення молекулярних тканинспецифічних діагностичних тестів для виявлення МГМ [37]. Було сформовано набір із 4 зондів, які виявляли найчастіші характерні хромосомні порушення при МГМ: центромерні мітки для хромосом 3, 7, 17 та хромосоми 9 (пробу, спе-

цифічну локусу 9p21, де локалізовано ген *P16*), проте широкого застосування ці діагностичні тести досі ще не набули [20, 41].

Втрату 8-ї хромосоми описано у 20 % випадків МГМ із моносомією 22 [1, 33]. Мутації гена фосфатази і гомолога тензину на 10-й хромосомі (*PTEN*, 10q23) або гена-інгібітора 2с циклінзалежної кінази (*CDKN2C*, 1p32) визначалися у рідкісних випадках атипичних або анапластичних менінгіом [43].

Серед генетичних аномалій, що “закріплюють” злоякісність, слід відзначити втрату хромосоми 17p, що несе ген *TP53*, який кодує білок p53 [16, 19, 51]. Делеція хромосоми 17 із порушеннями регуляторного шляху *ARF-MDM2-TP53* [20, 31] є поширеним явищем, асоційованим із несприятливим прогнозом перебігу захворювання — інвазивністю пухлини та її схильністю до рецидивів і меншою ефективністю лікування [7, 31]. Аналіз каріотипу атипичних та анапластичних МГМ методом порівняльної геномної гібридизації виявив зміни будови довгого плеча локусу 17q у понад 60 % анапластичних пухлин. Додатки й ампліфікації у ділянці 17q були виявлені у злоякісних формах МГМ, деякі з них містили онкоген *RPS6KB1* [16]. *RPS6KB1* може відігравати роль онкогену у патогенезі МГМ [1], проте це припущення потребує підтвердження.

Ген *HER2* (відомий також як *ErbB-2/HER2/neu*) розташований на ділянці 17q21. Його продуктом є трансмембранний глікопротеїн *HER2/neu*, представник сімейства рецепторів епідермальних факторів росту (*EGFR*), до складу якого входять білки *HER1*, *HER2*, *HER3*, *HER4*. Вони є трансмембранними рецепторами, які складаються з позаклітинного домену, трансмембранної частини і внутрішньоклітинного домену, що має тирозинкіназну активність [9]. Рецептори сімейства *HER* беруть участь у регуляції апоптозу, інвазії, швидкості росту та диференціюванні клітин. Позаклітинний сегмент рецептора *HER2/neu*, призводить до зупинки клітинного циклу у фазі  $G_1$  і блокує фазу проліферації. Припускають, що висока експресія гена *HER2/neu* пов'язана з резистентністю пухлини до ад'ювантної терапії [16, 20].

Поряд із геном *HER2/neu*, що локалізований на 17-й хромосомі, розташований ген топоізомерази IIa (*TOP2A*). Теоретично існує обґрунтоване припущення, що зміни структури кожного з цих генів взаємно можуть впливати на їх функцію. Так, дані, отримані при дослідженні гена *TOP2A*, свідчать про те, що існують найрізноманітніші поєднання стану цих генів у кожному конкретному клінічному випадку [9, 36, 52].

Зважаючи на те, що рівень високої ампліфікації гена *TOP2A* зберігається в метастатичних вогнищах гормонозалежних пухлин, зіставлення

характеристик обох генів дозволить уточнити механізм прогресії пухлини і слугуватиме патогенетичним обґрунтуванням індивідуального прогнозу. Вже доведено прогностичне значення надекспресії гена *HER2/neu* у пацієнтів із гормонозалежними пухлинами [9]. Надекспресія *HER2/neu* виявлена у 25-30 % випадків МГМ, причому цей показник корелює з великими розмірами пухлини, високим ступенем її злоякісності та негативним рецепторним статусом клітин пухлини. Надекспресія *HER2/neu* асоційована з виникненням ранніх рецидивів гормонозалежних пухлин, ризиком віддалених метастазів [37], ризиком смерті від прогресивного перебігу захворювання [13]. Проте порушення рівня експресії *HER2/neu* не в усіх випадках прямо пов'язане із несприятливим прогнозом, зокрема при МГМ.

Коекспресія *HER2/neu* та гена *TP53* корелює зі зменшенням безрецидивних термінів життя та ступенем злоякісності пухлин (вона притаманна їх високозлоякісним формам G3). Встановлено підвищення синтезу цього білка у пухлинах більших розмірів та у разі їх первинно множинної локалізації. Коекспресія *HER2/neu* та *COX2* (ген простагландин G/H синтази та циклооксигенази 2) притаманна агресивним формам пухлин. Співіснування експресії *COX2* з ампліфікацією гена *HER2/neu* виявлено у пацієнтів із віддаленими метастазами, незалежно від поширеності первинної пухлини та ступеня злоякісності (G) [19]. Експресія *COX2* асоціюється із ризиком виникнення рецидивів (67 % за наявності експресії і 24 % без неї) [46].

Загальновідомо, що гени *BRCA1* та *BRCA2* є супресорами клітинної проліферації, інактивация обох алелей яких призводить до неконтрольованого ділення і виникнення злоякісних пухлин [1, 49]. У носіїв мутацій генів *BRCA1/2* ризик виникнення гормонозалежних пухлин зростає з віком — до 50 років він становить 33-50 %, а після 70 років сягає 55-85 % [1, 51]. За наявності мутацій *BRCA1/2* частота виникнення локальних рецидивів вища (21,8 %), ніж у групі “спорадичних” пухлин (12,1 %), причому вагома частка рецидивів *BRCA*-асоційованих пухлин виникає у ранні терміни після операції [49].

Слід відзначити, що *BRCA1*-асоційовані пухлини у 80 % випадків співпадають із гіршим прогнозом і мають своєрідний фенотип: високі рівні проліферації, відсутність продукції рецепторів естрогенів (PE), рецепторів прогестерону (PP), *HER2/neu* та надекспресія *EGFR*. Значний відсоток *BRCA2*-асоційованих пухлин I-II ступенів злоякісності має інший фенотип: при високій продукції PE і PP відсутня продукція *HER2/neu*, що корелює з позитивним прогнозом. Деякі автори не відзна-

чають прямої кореляції між генетичними мутаціями і більшою частотою рецидивів, проте констатують, що комбінація негативного рецепторного статусу (PE, PP і HER2/neu) та мутації гена *TP53* корелюють із високим ступенем злоякісності пухлин і зустрічаються достовірно частіше у BRCA1/2-асоційованих пухлинах [46, 49].

Іншими біологічними чинниками, що мають прогностичне значення для виникнення рецидиву, є білки, що являють собою продукти пухлиносупресорних генів, які інгібують клітинний цикл (p53, p21WAF1 і p21Kip1) [30], або фактори росту пухлини (трансформуючий фактор росту, тромбоцитарний фактор росту) [19, 39, 51]. Достатньо вивченим вважають механізм пригнічення апоптозу шляхом підвищення експресії рецепторів ростових факторів, яка виникає в клітинах пухлин внаслідок активації онкогенів.

Рецептор фактора росту фібробластів (FGFR) є маркером диференційованих пухлин [12]. За участі FGFR реалізується мітогенний вплив різних типів клітин нейроектодермального і мезенхімального походження зі стимуляцією ангиогенезу. Імовірно, мішенню пухлинних сигналів FGFR є білки Ras (низькомолекулярні глутатіонтрансферази), які діють як молекулярні перемикачі, а також регулятори проліферації та диференціювання клітин [7, 8, 19]. Значення експресії гена *FGFR* для МГМ вивчено недостатньо.

При вивченні експресії генів циклінів та інгібіторів цикліназалежних кіназ у менінгіомах виявлено позитивну кореляцію рівня продукції цикліну D1 зі ступенем злоякісності та проліферативним індексом пухлин, що вимірювався за імуногістохімічним забарвленням маркерів Ki-67 та PCNA [35], а також встановлена позитивна кореляція продукції білка p21WAF1 і негативна кореляція продукції білка p27KIP1 зі ступенем злоякісності та проліферативним індексом пухлин (забарвлення Ki-67) [11].

В інвазивних менінгіомах виявлені зміни продукції білків позаклітинного матрикса, що активують локомоцію клітин МГМ, насамперед — надпродукцію матриксних металопротеїназ 2 і 9, катепсинів В, SPARC (*cysteine rich acidic secreted protein*), тенасцину й стромієлізину 3 [24, 27, 31].

Ампліфікація *MYC* є незалежним прогностичним чинником появи ранніх рецидивів гормонозалежних пухлин. Вже виявлено позитивну кореляцію між рівнями *MYC*, ростом і прогресією атипичних і злоякісних менінгіом [1, 8, 12]. Серед інших мутацій у контексті ризику розвитку рецидивів гормонозалежних пухлин вивчена мутація гена *CHEK2* (*cell-cycle checkpoint kinase-2*) [20, 34].

Останнім часом з'явилися цікаві повідомлення про генетичні "протектори": ядерна локалізація

PPAR- $\gamma$  (*peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$* ) виконує роль "протектора" і асоціюється з кращим прогнозом: за наявності продукції PPAR- $\gamma$  рецидиви виникають лише у 4 % випадків пухлин, а за відсутності експресії — у 27 % [47].

Важливо підкреслити, що в менінгіомах здатність до інвазії не корелює з гістологічними критеріями ступеня їх злоякісності, визначеними при стандартному морфологічному дослідженні. Навіть "гістологічно доброякісні" менінгіоми мають здатність до інвазії та цитогенетичну схожість з їх атипичними та анапластичними варіантами. Наявність у доброякісних формах менінгіом множинних цитогенетичних аберацій, активації онкогенів та делецій локусів генів-супресорів асоціюється з їх підвищеним інвазивним потенціалом [1, 31].

Таким чином, представлений огляд літератури доводить, що профілювання експресії генів та молекулярних і гормональних особливостей МГМ виявило кілька сотень відхилень від контрольних показників, рівень експресії яких змінюється в менінгіомах [1, 8, 51]. Фактично відсутні дослідження, присвячені вивченню прогностичного значення гормонального фону, рівня PE і PP в тканині пухлини, експресії різних імуногістохімічних маркерів в МГМ. Ці факти свідчать про доцільність пошуків нових методичних підходів до діагностики і комбінованого лікування МГМ.

Зважаючи на значну мозаїчність молекулярних і генетичних змін в МГМ і беручи до уваги те, що арахноендотелій має високу концентрацію рецепторів до стероїдних гормонів, ми проаналізували патогенетичні чинники, які мають практичне значення для удосконалення їх морфологічної діагностики та індивідуалізації комбінованого лікування МГМ.

Мета проведених досліджень полягає у виявленні структурних, молекулярно-генетичних і гормональних порушень у пухлинах оболонки головного мозку для з'ясування їх значення в індивідуалізації лікування та прогнозу подальшого перебігу захворювання при МГМ.

**Обстежувані та методи.** Досліджено 105 менінгіом різних гістологічних варіантів і ступеня злоякісності, яких було видалено у хворих, прооперованих в Інституті нейрохірургії НАМН України.

Основну групу склали пацієнти, яким до операції було проведено радіоімунологічне дослідження гормонів крові і визначені гістохімічні критерії гормоночутливості пухлини (PE, PP, Ki-67), що показали необхідність проведення протягом 6-12 місяців курсу гормонотерапії. До групи порівняння увійшли пацієнти, за усіма ознаками аналогічні першій, але яким не проводили гормонотерапії.

Загальноклінічні, клініко-неврологічні обстеження хворих у динаміці, катamnестичні — визначення клінічних ознак на різних етапах суміжними фахівцями, нейровізуалізаційні (КТ, МРТ, ОФЕКТ), нейрофізіологічні (ЕЕГ, УЗДГ), біохімічні, методи дослідження структурно-біологічних особливостей МГМ (морфологічні, імуногістохімічне визначення PE, PP і Ki-67), визначення рівня гормонів крові (PIA) — проводили за класичним стандартом.

Імуногістохімічне дослідження тканини МГМ проведено з використанням загальноприйнятих морфологічних оглядових методик. PE і PP виявляли за допомогою імуногістохімічного методу з використанням стандартного стрептовідін-біотинного пероксидазного комплексу і моноклональних антитіл до PE (клон 1D5) та PP (клон Rg 636) (Dako, Данія). Позитивною вважали реакцію, коли було забарвлено не менше 10 % клітин. Індекс Ki-67 (клон MIB 1) визначали, підраховуючи імунопозитивні ядра 100 клітин, і відображали у відсотках.

Для порівняння експресії генів за допомогою серійного аналізу генної експресії (*Serial Analysis of Gene Expression, SAGE*) використовували п'ять SAGE-бібліотек менінгіом, одну SAGE-бібліотеку нормальної тканини оболонки головного мозку, дев'ять SAGE-бібліотек гліобластом та п'ять SAGE-бібліотек нормального головного мозку (веб-сайт <http://cgap.nci.nih.gov/SAGE>) та пошукову програму DGED (*Digital Gene Expression Displayer*), що є частиною бази даних SAGE Genie, як було описано у наших попередніх дослідженнях [26].

Для ад'ювантної гормонотерапії МГМ нами були використані антиестрогени — похідні трифенілетилену (тамоксифен, фарестон). Препарати мають антибластичну дію, поєднуються здатністю викликати змішані естрогенні та антиестрогенні ефекти.

Статистичну обробку даних проводили за *t*-критерієм Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** За гістологічним типом пухлини розподілялися на менинготеліальні — 35, фібробластичні — 20, змішаної структури — 50; за ступенем злоякісності — на менингіоми доброякісні (типової структури) — 45, атипової структури — 28 і анапластичні (злоякісні) — 32 [40].

Для **доброякісних менингіом** (Grade I) гістологічно характерне рівномірне розташування клітин із помірним поліморфізмом ядер, відсутністю вогнищ некрозу і мітозів. У цій групі виділяли такі гістологічні варіанти менингіом: менинготеліоматозна, фібробластична, змішана, ангіоматозна, мікрокістозна, секреторна, псамоматозна, менингіома із лімфо-плазмодитарною інфільтрацією, метастатична.

**Атипові менингіоми** (Grade II) характеризувалися вираженим поліморфізмом клітин і ядер, наявністю мітозів. У цій групі виділяли наступні гістологічні варіанти менингіом: світлоклітинна, хордоїдна, атипова.

Діагностичний критерій атипових менингіом — висока мітотична активність (понад 4 мітози у полі зору) або поєднання трьох чи більше наступних ознак: щільноклітинність, наявність дрібних клітин з високим ядерно-цитоплазматичним коефіцієнтом, наявність ядерців, втрата типової структури і вогнища некрозів. Ознаки анаплазії або їх відсутність не є критеріями ризику рецидиву та здатності до інвазії.

**Анапластичні менингіоми** (Grade III) гістологічно характеризуються щільним розташуванням клітин, множинними фігурами мітозів і наявністю вогнищ некрозу. У цій групі виділяли два гістологічні варіанти (папілярна, рабдоїдна). Відомо, що злоякісні менингіоми рецидивують у 50-80 % випадків і можуть давати позачерепні віддалені метастази [8, 10, 46].

У менингіомах виявлена значна кількість рецепторів стероїдних і нестероїдних гормонів, найбільш вивченими з яких є PP і PE. Нормальні клітини арахноендотелію експресують PP у незначному відсотку клітин, що доводить значущість прогестеронової стимуляції росту клітинних ліній менингіом *in vitro*, а антагоністи PP інгібують ріст окремих клітинних ліній МГМ. Виявлена мутантна форма PE, яка, імовірно, не впливає на регуляцію синтезу PP у менингіомах [23, 29].

Співставлення результатів імуногістохімічних досліджень рівня PP і PE, маркерів проліферації в МГМ з особливостями їх клінічного перебігу дозволило встановити залежність прогресії МГМ від гормонального статусу організму. Аналіз показав, що зв'язок між трьома чинниками (рівнем PP, PE, проліферативним індексом Ki-67) та ступенем злоякісності пухлини має статистично достовірне прогностичне значення перебігу захворювання — чим нижчий рівень PP і PE та вищий рівень Ki-67, тим більш злоякісніша пухлина.

Визначення проліферативної активності МГМ показало, що рівень Ki-67 у МГМ типової структури коливався у межах від 0 % до 5,4 %, в атипових — від 5,9 % до 18,1 %, в анапластичних — від 21,5 % до 70,0 %.

Дослідження рівнів рецепторів стероїдних гормонів у тканині МГМ виявило наявність рецепторів естрогену і прогестерону (PE+) і (PP+) у 33 % випадків, відсутність рецепторів (PE-) при наявності (PP+) — у 29 % випадків, (PE+) і (PP-) — у 5 % випадків, (PE-) і (PP-) — у 33 % випадків.

Всього (РП+) виявлено у 62 % (33 % + 29 %) МГМ, а (РЕ+) — у 38 % (33 % + 5 %) випадків.

Встановлено позитивну кореляцію між рівнями експресії рецепторів до стероїдних гормонів і ступенем диференціювання МГМ: у більшості випадків МГМ (60 %) встановлена низька проліферативна активність (до 5 %) й чітка, виражена ядерна експресія РП; у 30 % випадків встановлена помірна експресія рецепторів стероїдних гормонів (РП до 30 %) при зростанні індексу проліферації від 20 до 45 %; у 10 % випадків проліферативна активність була вище 50 % при негативній реакції на РП (не більше 11 %). Наявність РП виявлено у 65 (61,9 %) випадків, а РЕ — у 40 (38,1 %). РП+ та РЕ+ виявлено у 70 (66,7 %) випадків (табл. 1).

Таблиця 1  
Розподіл рецепторів прогестерону (РП) та естрогену (РЕ) в МГМ залежно від ступеня їх злоякісності (n = 105), M ± m

Варіанти МГМ	Число спостережень, абс. (%)	РП+, %	РЕ+, %
Типові	55 (53,0 %)	78,0 ± 3,2	26,4 ± 4,1
Атипові	40 (38,0 %)	62,4 ± 0,9**	20,2 ± 0,7*
Анапластичні	10 (9,0 %)	29,6 ± 6,1**	13,1 ± 0,3**

Примітки: \* — P < 0,05, \*\* — P < 0,01 порівняно з типовими МГМ.

Відсутність позитивної реакції на стероїдні гормони у тканині пухлини свідчить про низьку чутливість або резистентність МГМ до антигормональної терапії (АГТ). Концентрація РП і РЕ є одним з непрямих показників ступеня диференціювання пухлини. Експресія РЕ і РП у тканині пухлини може служити прогностично сприятливим показником ефективності АГТ. Наявність позитивних РЕ і РП свідчить про доцільність призначення АГТ.

Нами розроблено ефективний метод комплексної оцінки чутливості МГМ до АГТ за значеннями індексу гормональної чутливості (ІГЧ) і доведено доцільність його застосування. Індекс розраховують на підставі даних визначення рівня РЕ, РП і Ki-67 за формулою

$$\text{ІГЧ} = \frac{\text{РЕ} + \text{РП}}{\text{Ki-67}},$$

де ІГЧ — індекс гормональної чутливості, РЕ, РП та Ki-67 — у %.

Ми запропонували достовірний спосіб оцінки чутливості МГМ до АГТ і прогнозування ефективності ад'ювантної (післяопераційної) АГТ у хворих МГМ РЕ+ і/або РП+. При ІГЧ < 60 чутливість МГМ до АГТ визначають як слабку, при ІГЧ > 60, але < 120 — як середню і при ІГЧ > 120 — як високу чутливість до АГТ. Наявність РЕ і особливо РП може свідчити, що в МГМ функціонально активна система

стероїдних гормонів. Чим вище значення індексу, тим сприятливіший прогноз ефективності лікування.

Рівень РЕ і РП у первинних МГМ залежить від віку хворого, розміру пухлини, ступеня її інвазивності і знижується при прогресуванні захворювання.

Доцільність гормональної терапії в комплексному лікуванні МГМ при нерадикальному видаленні пухлини визначається рівнем стероїдних гормонів крові хворих з МГМ та рецепторів стероїдних гормонів у тканині МГМ і є об'єктивним критерієм при підборі оптимальних доз препаратів для АГТ.

Оскільки інвазивність МГМ вважається певною ознакою агресивності пухлини, яка має клінічне і прогностичне значення, нами проаналізована глибина інвазії МГМ у речовину головного мозку, кістки та м'які тканини черепа, яка залежить від злоякісності та рівня РП і РЕ у клітинах МГМ (рис. 1).

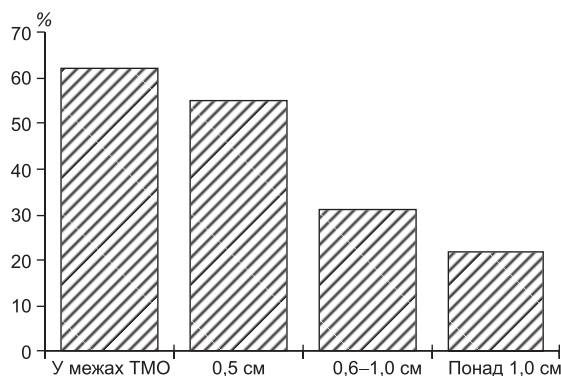


Рис. 1. Рівень РП залежно від глибини інвазії МГМ. ТМО — тверда мозкова оболонка.

Порівняння 5-річної виживаності хворих з МГМ свідчить про тенденцію до її поліпшення при комплексному лікуванні порівняно з лише хірургічним видаленням пухлин (табл. 2).

Місцеві рецидиви при комплексному лікуванні були рідшими, при атипових МГМ — (21,9 ± 5,1) % проти (30,1 ± 5,5) % при лише хірургічному, так і при анапластичних МГМ — (15,3 ± 3,2) % і (24,4 ± 3,6) %, відповідно.

Отже, включення у комплексне лікування хворих з МГМ індивідуально підбраної АГТ підвищує ефективність лікування і збільшує п'ятирічне виживання хворих з атиповими МГМ майже в 1,2 рази, а з анапластичними МГМ — майже у 2,5 рази. Дані щодо термінів безрецидивної виживаності вказують на ефективність АГТ, оскільки середні терміни виживання збільшились від 34 міс до 66 міс (тобто в 1,8 рази).

Гормональній залежності зумовлює відсутність системної автономності МГМ і можливість ендокринної корекції. Саме порушення ланок нейрогу-

Таблиця 2

## П'ятирічна виживаність хворих у залежності від типу МГМ та виду лікування, абс. (%)

Тип МГМ	Усі види лікування		Хірургічне (X)		Комплексне (X + ПТ*)		Комплексне (X + АГТ)	
	число хворих	виживаність	число хворих	виживаність	число хворих	виживаність	число хворих	виживаність
Типові	77	76 (98,7) <sup>#</sup>	40	39 (97,5)	2	2 (100)	35	35 (100)
Атипові	119	107 (89,9)	45	42 (93,3)	24	20 (83,3)	50	45 (90,0)
Анапластичні	119	76 (63,8) <sup>#</sup>	20	11 (55,0) <sup>#</sup>	79	55 (69,6) <sup>#</sup>	20	10 (50,0) <sup>#</sup>

Примітки: \*ПТ — променева терапія, <sup>#</sup> —  $P < 0,05$  порівняно з атиповими МГМ.

моральної регуляції формують патогенетичні механізми гормонозалежних пухлин.

З метою ідентифікації потенційних молекулярних маркерів сполучнотканинних пухлин головного мозку було проведено визначення змін експресії генів у менінгіомах порівняно з нормальним лептоменінгсом за допомогою серійного аналізу генної експресії (*SAGE* — *Serial Analysis of Gene Expression*). *SAGE* виявив 166 “ярликів” з диференційним розподілом між пулом п'яти *SAGE*-бібліотек менінгіом і *SAGE*-бібліотекою нормальної тканини оболонки головного мозку при застосуванні таких параметрів пошуку: коефіцієнт зміни експресії  $F \geq 2$  та значення вірогідності  $P \leq 0,05$ . Більшість досліджень з використанням методів експресійної генетики, описаних в літературі, проведено саме з такими значеннями цих параметрів. Після відповідної обробки більш ніж 2-кратна різниця в експресії була ідентифікована для 114 генів, з яких 31 ген надекспресований в менінгіомі.

Співставлення результатів *SAGE* для менінгіом та гліальних пухлин з метою визначення специфічних змін експресії для двох типів пухлин головного мозку показало істотну різницю у кількості генів зі зміненою експресією в менінгіомах (166) порівняно з олігодендрогліомами (1159) та гліобластомами (1303). Щоб перевірити, чи це є відображенням ступеня злоякісності, нами проаналізовано пухлини однакового походження — дифузні астроцитомі (ступінь злоякісності II за класифікацією ВООЗ), анапластичні астроцитомі (ступінь злоякісності III за класифікацією ВООЗ) та гліобластоми (ступінь злоякісності IV за класифікацією ВООЗ) — і знайдено, що кількість генів, експресія яких змінюється, корелює зі ступенем злоякісності.

Співставлення списків генів, диференційно експресованих в менінгіомі та в гліобластомі, виявило деякі особливості змін експресії генів в менінгіомі. Так, для менінгіом характерна надекспресія генів родини кальційзв'язуючих білків: *S100A10*, *S100A14* та *S100A16*. Надекспресія гена *S100A10* відбувається також і в гліобластомі, однак гени *S100A14* та *S100A16* не змінюють експресію в цій пухлині. Іншою

характерною відзнакою менінгіом є високий рівень експресії рибосомальних генів (*RPS3A*, *RPL10A*, *RPL29*, *RPL41*). Ще однією відмінністю менінгіом від гліальних пухлин є зменшення експресії генів колагенів (*COL4A1* та *COL118A1*), хоча в гліобластомах відзначається значне підвищення генів колагенів (*COL1A1*, *COL1A2*, *COL3A1*, *COL4A1*, *COL4A2*, *COL6A3*), яке виявляється методом *SAGE*, а також було повідомлено у численних публікаціях з використанням мікроарейного аналізу експресії генів у гліобластомах [25]. Також, на противагу підвищенню експресії генів IGF-зв'язуючих білків у гліобластомі, у менінгіомі відбувається зниження експресії генів *IGFBP4* та *IGFBP7*. Ще два гени, для яких характерне підвищення експресії в гліобластомі (*CIQA* та *SERPINA3*), знижують свою експресію в менінгіомах (табл. 3).

Протилежні зміни експресії деяких генів у гліальних та сполучнотканинних пухлинах свідчать про різні механізми формування цих двох типів пухлин. Вони можуть бути використані для молекулярної характеристики пухлин різного походження і розпізнавання пухлин у випадках неясної етіології.

Таким чином, серійним аналізом генної експресії виявлені зміни експресії генів, характерні для пухлин головного мозку менінгеального та гліального походження. Після тестування на великій кількості клінічних зразків частина цих генів може бути використана для створення множинних діагностичних маркерів, так званих генних сигнатур (підписів), для даної пухлини.

Раніше нами було визначено за допомогою *SAGE* надзвичайно високий вміст “ярлика” *CTTGGGTTTT* в *SAGE*-бібліотеках менінгіом, тобто високий рівень продукції незвичайної РНК розміром 1.8 т. н., яка утворюється з 3'-нетрансльованої ділянки 9-го екзону гена *IGF2* у результаті ендонуклеотичного розщеплення довгих мРНК IGF2 і кодує гіпотетичний білок IGF2A (*putative insulin-like growth factor 2 associated protein*) розміром 113 амінокислот. Нозерн-гібридацією тотальних РНК хірургічних зразків пухлин і нормального головного мозку було підтверджено результати *SAGE* і виявлено продукцію РНК IGF2A у



Таблиця 3

## Протилежні зміни експресії генів у менингіомах та гліобlastомах

Ген	Зміни експресії	
	у менингіомі	у гліобlastомі
<i>S100A14</i>	підвищується	не змінюється
<i>S100A16</i>	підвищується	не змінюється
<i>S100A10</i>	підвищується	підвищується
<i>RPS3A</i>	підвищується	не змінюється
<i>RPL10A</i>	підвищується	не змінюється
<i>RPL29</i>	підвищується	не змінюється
<i>RPL41</i>	підвищується	не змінюється
<i>COL18A1</i>	знижується	підвищується
<i>COL4A1</i>	знижується	не змінюється
<i>COL1A1</i>	не змінюється	підвищується
<i>COL1A2</i>	не змінюється	підвищується
<i>COL6A3</i>	не змінюється	підвищується
<i>IGFBP4</i>	знижується	підвищується
<i>IGFBP7</i>	знижується	підвищується
<i>C1QA</i>	знижується	підвищується
<i>SERPINA3</i>	знижується	підвищується

менингіомах і відсутність цієї РНК у гліобlastомах і олігодендрогліомах (рис. 2) [3].

У ряді досліджень в менингіомах був виявлений високий вміст високомолекулярних транскриптів *IGF2* (4,8 та 6,0 т. н.), а також транскрипту *IGF2* розміром 2,2 т. н. [22, 39]. Автори припускають, що *IGF2* стимулює ріст пухлинних клітин через активацію рецептора *IGF1* [22]. Високий рівень мРНК *IGF2* в комбінації з низьким рівнем мРНК *IGFBP2* (*IGF*-зв'язуючого білка 2) корелює з анапластичною/атипічною гістопатологією МГМ [39].

Таким чином, нами вперше виявлено продукцію специфічного транскрипта гена *IGF2* у МГМ. Беручи до уваги стабільність РНК *IGF2A* після розщеплення довгого транскрипта *IGF2*, можна припустити для неї існування власної клітинної функції і можливої ролі у формуванні МГМ. *IGF2A* може бути специфічним маркером цих пухлин.

Отже, очевидно, що виникнення МГМ визначається не одним чинником, а поєднанням молекулярно-генетичних змін й опосередкованих ними метаболічних і гормональних зрушень. Оболонки головного мозку можна вважати тканинами-мішенями, надзвичайно чутливими до дії гормонів, що і зумовлює проліферацію і розвиток пухлин.

Як було викладено вище, значна кількість цитогенетичних змін пов'язана з прогресією МГМ — втрати хромосом 1*p*, 6*q*, 9*p*, 10, 14*q*, і 18*q*, а також добавки/ампліфікації ділянок 1*q*, 9*q*, 12*q*, 15*q*, 17*q* і 20*q* [1, 16, 24, 41, 46, 48, 51, 52]. Значущість описаних хромосомних поломок й досі остаточно не встановлена.

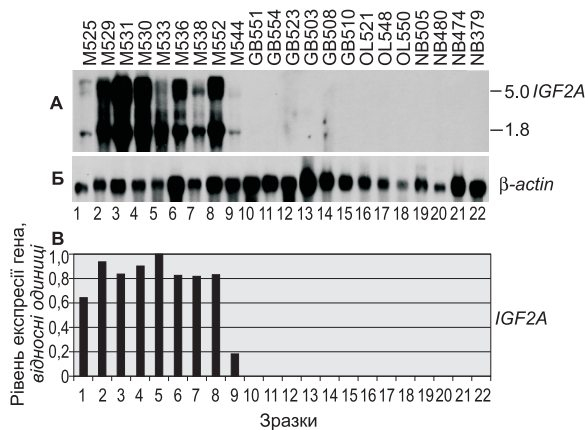


Рис. 2. Аналіз вмісту мРНК *IGF-2*-асоційованого білка в пухлинах головного мозку. А — нозерн-гібридизація панелі РНК пухлин головного мозку з  $^{32}\text{P}$ -міченою кДНК *IGF-2*-асоційованого білка. Б — нозерн-гібридизація з контрольною пробєю кДНК бета-актину. В — відносний рівень експресії РНК *IGF-2*-асоційованого білка. Над кожною доріжкою подані позначення і умовний номер пухлини: М — менингіома (525 — атипична менингіома змішаної структури, ступінь злоякісності II; 529 — атипична менингіома змішаної структури, ступінь злоякісності II з переважаючим фібробластичним компонентом; 530, 531 — анапластична менингіома, ступінь злоякісності III; 533, 552 — атипична менингіома, ступінь злоякісності II; 536 — атипична менингіома множинна, ступінь злоякісності II; 538 — типова менингіома змішаної структури; 544 — типова менингіома змішаної структури). *GB* — зразки гліобlastом, *OL* — зразки анапластичних олігодендрогліом, *NB* — зразки нормального головного мозку.

Ризик розвитку МГМ значно вище у жінок, ніж у чоловіків. При дефектах 22-ї хромосоми встановлена відсутність превалювання частоти МГМ у жінок. Для пухлин із звичайним каріотипом або ізольованою моносомією 22 співвідношення чоловіків і жінок — 3:1, а для МГМ з підвищеною гіподиплоїдністю — 1:1 [31]. Поясненням гендерних відмінностей є патогенетична роль впливу жіночих статевих гормонів на розвиток МГМ, наявність РП і РЕ, які виявлені в МГМ [2, 4, 5].

Прогностична роль рецепторного статусу стероїдних гормонів досить добре відома [5, 23]. Відкриті у 1962 р. *E. V. Jensen* та *H. I. Jacobsen* рецептори стероїдних гормонів є білками, які специфічно і селективно зв'язуються зі стероїдами, опосередковуючи їх біологічні ефекти [23].

Гормональна залежність МГМ ґрунтується на таких фактах: у МГМ часто верифікують РЕ і РП, проте частіше переважають саме РП. Існує зв'язок активності РП в менінгіомах з вищою захворюваністю жінок, а також зі швидкою прогресією пухлин під час вагітності [2, 4]. Не виключено, що експресія РП у клітинах МГМ також знаходиться під контролем естрогену та інших стероїдних гормонів (андрогени або глюкокортикоїди) [2, 5, 23]. Можливо, що РП в МГМ відрізняються певними особливостями від РП органів-мішеней для естрогену і виконують іншу функцію [29].

Зважаючи на патогенетичні і морфогенетичні особливості стероїдних гормонів, слід наголосити, що, взаємодіючи із гормоночутливою клітиною, стероїд зв'язується із специфічним білком-рецептором, якому притаманна висока подібність до цього гормону, чим і пояснюється механізм дії гормональних препаратів [2, 4]. Концентрація рецепторів статевих гормонів у тканині-мішені визначає її чутливість до гормону й обґрунтовує значущість кількісної оцінки гормональної чутливості МГМ [5, 13, 29].

Зіставлення результатів імуногістохімічних досліджень рівня РП і РЕ, маркерів проліферації в МГМ з особливостями їх клінічного перебігу дозволило встановити кореляцію між прогресією МГМ та гормональним статусом пацієнта [4]. Існування взаємозалежності між кількістю РП, мітотичним індексом і ступенем злоякісності пухлини запропоновано вважати значущим щодо прогнозу перебігу захворювання [4, 11]. Рівень РП і РЕ є одним з непрямих показників ступеня диференціювання пухлини [1, 8, 29]. Ці чинники по-різному компонується, формуючи підґрунтя розвитку, прогресії і рецидивування МГМ [17, 45].

Описано два типи РЕ —  $\alpha$ - і  $\beta$ -рецептори, що кодовані генами *ESR 1* і *ESR 2* [5, 13]. Ці рецептори виконують різні функції і по-різному взаємодіють

з естрогеном. Коли підвищена експресія  $\alpha$ -рецепторів корелює з підвищеною експресією РП та іншими маркерами сприятливого прогнозу (диплоїдія, невеликий розмір пухлини, менша кількість клітин у S-фазі), то підвищена експресія  $\beta$ -рецепторів корелює із несприятливим прогнозом [5].

Рецептори прогестерону існують також двох типів —  $\alpha$  і  $\beta$ , які кодуються геном *PGR*:  $\alpha$ -РП блокує транскрипцію генів-мішеней, які активуються рецепторами інших стероїдних гормонів (естрогену, глюкокортикоїдів, альдостерону і андрогенів). Стимулюючий ефект прогестерону опосередковує  $\beta$ -рецептор, тоді як  $\alpha$ -рецептор блокує дію останнього [29].

Комплексна оцінка рівня рецепторів стероїдних гормонів у тканині МГМ, індексу проліферації, особливостями гістології МГМ та її клінічних проявів є важливою для вибору раціональної стратегії лікування [4]. Рецидивуючі МГМ мають вищі рівні позитивних РЕ і РП, що підтверджує можливість лікування рецидивів через системний вплив на ланки ендокринної системи [5, 13].

Нами доведена пряма кореляція гормоночутливого патогенетичного варіанта з високим ступенем диференціювання МГМ, з малою частотою продовженого росту і рецидивів та високою чутливістю до АГТ, а гормонорезистентного патогенетичного варіанта — з низьким диференціюванням МГМ, переважанням злоякісних форм МГМ, їх високою схильністю до інвазії, продовженого росту і рецидивів та резистентністю до АГТ.

Наявність РЕ і РП в МГМ свідчить про їх гормоночутливість та сприятливий прогноз захворювання, тоді як їх відсутність вказує на погіршення прогнозу у зв'язку з появою ознак злоякісності пухлини з частими рецидивами. Наростання анаплазії МГМ супроводжується підвищенням рівня Ki-67 і зниженням рівня РЕ і РП у тканині пухлини. Всього РП виявлені в 62 % МГМ, а РЕ — в 38 % випадків.

Аналіз віддалених результатів лікування хворих з МГМ показав, що, незважаючи на позитивні РЕ і РП, у 30-60 % випадків пухлина нечутлива до призначеного лікування і не реагує на АГТ, а 5-7 % хворих із негативним рецепторним статусом МГМ позитивно реагують на АГТ.

Отже, прогрес у лікуванні хворих із МГМ пов'язують з більш широким використанням комплексного лікування, коли після нейрохірургічного етапу застосовують АГТ. Критерієм, що обґрунтовує проведення АГТ при МГМ, є визначення гормонального фону, а також РЕ і РП у тканині пухлин.

Схожість патогенезу МГМ з іншими гормонозалежними пухлинами полягає у важливій ролі ендокринно-обмінних порушень. МГМ, на нашу

думку, можна обґрунтовано вважати дисгормональним захворюванням.

Іншим клінічно важливим феноменом є інвазивна активність менингиом. *B. Borovich* та *Y. Doron* [14] запропонували "інтрадуральний" механізм інвазії і міграції, оскільки виявляли менинготеліальні островці вздовж радіальних ліній твердої мозкової оболонки, навколо менингиоми в порівнянні з контрольними ділянками. Інвазія МГМ у речовину мозку зустрічається рідше, хоча й не вважається вірогідною ознакою наростання стадії агресивності пухлини. Втрата "псевдокапсули" і вrostання в па-

ренхіму мозку пластами неправильної форми із втратою умовної межі вважається достовірною ознакою злоякісності [1, 6, 10].

Встановлення молекулярних особливостей МГМ об'єктивізує "біологічну агресивність" пухлин і дає можливість їх субтипизації за специфічними ознаками у разі необхідності диференціальної діагностики. Отже, виявлення молекулярних маркерів переходить з категорії додаткових показників у категорію необхідних для обґрунтування найбільш ефективних методів індивідуалізованого лікування й прогнозування рецидиву хвороби.

### Список використаної літератури

1. *Бекяшев А. Х.* Патогенез менингиом (обзор литературы) // Опухоли головы и шеи. — 2011. — 4. — С. 26-40.
2. *Берштейн Л. М.* Гормональный канцерогенез. — СПб.: Наука, 2000. — 199 с.
3. *Дмитренко В. В., Букреева Т. В., Шостак К. О.* и др. Надзвичайно високий вміст мРНК IGF-II-асоційованого білка в менингиомах // Укр. біохім. журн. — 2007. — 79. — С. 55-61.
4. *Зозуля Ю. А., Кваша М. С.* Рецепторы стероидных гормонов, пролиферативная активность и клинико-морфологические особенности менингиом головного мозга // Укр. нейрохірург. журн. — 2002. — 2. — С. 81-86.
5. *Инг Нэнси Г., О'Мэлли Берт У.* Суперсемейство рецепторов стероидных гормонов: молекулярные механизмы действия // Молекулярная эндокринология. — М.: Медицина, 2003. — С. 191-208.
6. *Коновалов А. Н., Бликов С. М., Пуцилло М. В.* Атлас нейрохирургической анатомии. — М.: Медицина, 1990. — 334 с.
7. *Копнин Б. П.* Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза // Биохимия. — 2000. — 65. — С. 5-33.
8. *Тиглиев Г. С., Олюшин В. Е., Бекяшев А. Х., Сычева Р. В.* Патологическая анатомия и молекулярная биология менингиом // Вопросы нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко. — 2007. — 4. — С. 11-16.
9. *Хансон К. П.* Ген HER2/neu: от открытия до клинического использования // Вопросы онкологии. — 2002. — 48, № 2. — С. 137-145.
10. *Хоминский Б. С.* Патоморфология и классификация менингиом (арахноидэндотелиом) // Архив патологии. — 1958. — 6. — С. 3-20.
11. *Amatya V. J., Takeshima Y., Sugiyama K.* et al. Immunohistochemical study of Ki-67 (MIB-1), p53 protein, p21 WAF1 and p27KIP1 expression in benign, atypical and anaplastic meningiomas // Hum. Pathol. — 2001. — 32. — P. 970-975.
12. *Atkinson L. L., Schmidek H. H.* Genetic aspects of meningiomas // Meningiomas and their surgical management / Ed. H. H. Schmidek. — Philadelphia: W. B. Saunders Co., 1991. — P. 42-47.
13. *Bonin S., Brunetti D., Benedetti E.* Molecular characterization of breast cancer patients at high and low recurrence risk // Vichows Arch. — 2008. — 52, № 3. — P. 241-250.
14. *Borovich B., Doron Y.* Recurrence of intracranial meningiomas: the role played by regional multicentricity // J. Neurosurg. — 1986. — 64. — P. 58-63.
15. *Bostrom J., Meyer-Puttlitz B., Wolter M.* et al. Alterations of the tumor suppressor genes CDKN2A (p16INK4a), p14ARF, CDKN2B (p15INK4b), and CDKN2C (p18INK4c) in atypical and anaplastic meningiomas // Am. J. Pathol. — 2001. — 159. — P. 661-669.
16. *Buschges R., Ichimura K., Weber R. G.* et al. Allelic gain and amplification on the long arm of chromosome 17 in anaplastic meningiomas // Brain Pathol. — 2002. — 12, № 2. — P. 145-153.
17. *Cai D. X., James C. D., Scheithauer B. W.* et al. PS6K amplification characterizes a small subset of anaplastic meningiomas // Am. J. Clin. Pathol. — 2001. — 115. — P. 213-218.
18. *Cushing H., Eisenhardt L.* Meningiomas. Their Classification, Regional Behaviour, Life History and Surgical End Results. Springfield, Illinois: Charles C. Thomas, 1938. — 785 p.
19. *Friend K. E., Radinsky R., McCutcheon I. E.* Growth hormone receptor expression and function in meningiomas: Effect of a specific receptor antagonist // J. Neurosurg. — 1999. — 91. — P. 93-99.
20. *Greenman C., Stephens P., Smith R.* Patterns of somatic mutation in human cancer genomes // Nature. — 2007. — 446. — P. 153-158.
21. *Gutmann D. H., Hirbe A. C., Haipiek C. A.* Functional analysis of neurofibromatosis 2 (NF2) missense mutations // Hum. Mol. Genet. — 2001. — 10. — P. 1519-1529.
22. *Hultberg B. M., Haselbacher G., Nielsen F. C.* et al. Gene expression of insulin-like growth factor II in human intracranial meningioma // Cancer. — 1993. — 72, № 11. — P. 3282-3286.
23. *Jensen E. V., Jacobsen H. I.* Basic guides to the mechanism of estrogen action // Rec. Prog. Horm. Res. — 1962. — 18. — P. 387-414.
24. *Kalamarides M., Niwa-Kawakita M., Leblois H.* et al. Nf2 gene inactivation in arachnoidal cells is rate-limiting for meningioma development in the mouse // Genes Dev. — 2002. — 16. — P. 1060-1065.
25. *Kanno H., Yamamoto I., Yoshida M., Kitamura H.* Meningioma showing VHL gene inactivation in a patient with von Hippel-Lindau disease // Neurology. — 2003. — 60, № 7. — P. 1197-1199.

26. *Kavsan V. M., Dmitrenko V. V., Shostak K. O. et al.* Comparison of microarray and SAGE techniques in gene expression analysis of human glioblastoma // *Cytol. Genet.* — 2007. — **41**. — P. 36-55.
27. *Kilic T., Bayri Y., Ozduman K. et al.* Tenascin meningioma: expression is correlated with anaplasia, vascular endothelial growth factor expression, and peritumoral edema but not with tumor border shape // *Neurosurgery.* — 2002. — **51**. — P. 183-193.
28. *Kishida Y., Natsume A., Kondo Y. et al.* Epigenetic subclassification of meningiomas based on genome-wide DNA methylation analyses // *Carcinogenesis.* — 2012. — **33**. — P. 436-441.
29. *Konstantinidou A. E., Korkolopoulou P., Mahera H. et al.* Hormone receptors in non-malignant meningiomas correlate with apoptosis, cell proliferation and recurrence free survival // *Histopathology.* — 2003. — **43**. — P. 280-290.
30. *Kros J., de Greve K., van Tilborg A. et al.* NF2-status of meningiomas is associated with tumour localization and histology // *J. Pathol.* — 2001. — **194**. — P. 367-372.
31. *Lamszus K.* Meningioma pathology, genetics and biology // *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* — 2004. — **63**. — P. 275-286.
32. *Lekanne Deprez R. H., Riegman P. H., Groen N. A. et al.* Cloning and characterization of MN1, a gene from chromosome 22q11, which is disrupted by a balanced translocation in a meningioma // *Oncogene.* — 1995. — **10**. — P. 1521-1528.
33. *Leone P. E., Bello M. J., de Campos J. M. et al.* NF2 gene mutations and allelic status of 1p, 14q and 22q in sporadic meningiomas // *Oncogene.* — 1999. — **18**. — P. 2231-2239.
34. *Maillo A., Orfao A., Sayagues J. M. et al.* New classification scheme for the prognostic stratification of meningioma on the basis of chromosome 14 abnormalities, patient age, and tumor histopathology // *J. Clin. Oncol.* — 2003. — **21**. — P. 3285-3295.
35. *Milenković S., Marinković T., Jovanović M. B. et al.* Cyclin D1 immunoreactivity in meningiomas // *Cell. Mol. Neurobiol.* — 2008. — **28**. — P. 907-913.
36. *Moon Y. W., Jeung H. C., Rha S. Y. et al.* Different criteria for HER2 positivity by IHC can be applied in post-chemotherapy specimens in determining HER2 as a prognostic factor in locally advanced breast cancer // *Breast Cancer Res. Treat.* — 2007. — **104**, № 1. — P. 31-37.
37. *Moonen P. M., Merkh G. F., Peelen P. et al.* UroVysion compared with cytology and quantitative cytology in the surveillance of non-muscle-invasive bladder cancer // *Eur. Urol.* — 2007. — **51**. — P. 1275-1280.
38. *Murakami M., Hashimoto N., Takahashi Y. et al.* A consistent region of deletion on 1p36 in meningiomas: identification and relation to malignant progression // *Cancer Genet. Cytogenet.* — 2003. — **140**. — P. 99-106.
39. *Nordqvist A. C., Peyrard M., Pettersson H. et al.* A high ratio of insulin-like growth factor II/insulin-like growth factor binding protein 2 messenger RNA as a marker for anaplasia in meningiomas // *Cancer Res.* — 1997. — **57**, № 13. — P. 2611-2614.
40. *Ostrom Q. T., Gittleman H., Farah P. et al.* CBTRUS statistical report: Primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2006-2010 // *Neuro Oncol.* — 2013. — **15**, Suppl 2. — P. 1-56.
41. *Perry A., Banerjee R., Lohse C. M. et al.* A role for chromosome 9p21 deletions in the malignant progression of meningiomas and the prognosis of anaplastic meningiomas // *Brain Pathol.* — 2002. — **12**. — P. 183-190.
42. *Perry A., Dehner L. P.* Meningeal tumors of childhood and infancy. An update and literature review // *Brain Pathol.* — 2003. — **13**. — P. 386-408.
43. *Peters N., Wellenreuther R., Rollbrocker B. et al.* Analysis of the PTEN gene in human meningiomas // *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* — 1998. — **24**. — P. 3-8.
44. *Reiss K., Mentlein R., Sievers J., Hartmann D.* Stromal cell-derived factor 1 is secreted by meningeal cells and acts as chemotactic factor on neuronal stem cells of the cerebellar external granular layer // *Neuroscience.* — 2002. — **115**. — P. 295-305.
45. *Robb V. A., Li W., Gascard P. et al.* Identification of a third P-rotein 4.1 tumor suppressor, Protein 4.1R, in meningioma pathogenesis // *Neurobiol. Dis.* — 2003. — **13**. — P. 191-202.
46. *Sanson M., Cornu P.* Biology of meningiomas // *Acta Neurochir (Wien).* — 2000. — **142**. — P. 493-505.
47. *Savage D. B.* PPAR-gamma as a metabolic regulator: insights from genomics and pharmacology // *Expert Revs Mol. Med.* — 2007. — **7**, № 1. — P. 1-16.
48. *Schmitz U., Mueller W., Weber M. et al.* INI1 mutations in meningiomas at a potential hotspot in exon 9 // *Br. J. Cancer.* — 2001. — **84**. — P. 199-201.
49. *Struewing J. P., Hartge P., Wacholder S. et al.* The risk of cancer associated with specific mutations of BRCA1 and BRCA2 among Ashkenazi Jews // *N. Engl. J. Med.* — 1997. — **336**, № 20. — P. 1401-1408.
50. *Surace E. L., Haipek C. A., Gutmann D. H.* The effect of merlin phosphorylation on neurofibromatosis 2 (NF2) gene function // *Oncogene.* — 2004. — **23**. — P. 580-587.
51. *Watson M., Gutmann D. H., Peterson K. et al.* Molecular characterization of human meningiomas by gene expression profiling using high-density oligonucleotide microarrays // *Am. J. Pathol.* — 2002. — **161**. — P. 665-672.
52. *Wrobel G., Roerig P., Kokocinski F.* Microarray-based gene expression profiling of benign, atypical and anaplastic meningiomas identified novel genes associated with meningioma progression // *Int. J. Cancer.* — 2005. — **114**. — P. 249-256.

Одержано 2.09.2013

**ИЗМЕНЕНИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В МЕНИНГИОМАХ ГОЛОВНОГО  
МОЗГА И ИХ КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ  
(обзор литературы и собственных исследований)**

**Ю. А. Зозуля, М. С. Кваша, Т. А. Малишева, В. В. Дмитренко\*, В. М. Кавсан\***

Государственное учреждение "Институт нейрохирургии им. акад. А. П. Ромоданова  
НАМН Украины", 04050 Киев

\*Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины, 03680 Киев

Представлены данные литературы и собственных исследований о цитогенетических аномалиях и изменениях экспрессии генов в менингиомах головного мозга, свидетельствующих об особенностях пато- и морфогенеза формирования разных субтипов этих новообразований. Принципиальным является не только определение гистологических критериев, но и оценка признаков, которые выявляются современными методами (морфологическими, молекулярными и генетическими). Установленные особенности распределения рецепторов стероидных гормонов и пролиферативной активности менингиом способствуют оптимизации и индивидуализации лечебных схем и прогноза.

**CHANGES OF GENE EXPRESSION IN CEREBRAL MENINGIOMAS AND  
THEIR CLINICAL SIGNIFICANCE (review of literature and own data)**

**Yu. A. Zozulia, M. S. Kvasha, T. A. Malysheva, V. V. Dmitrenko\*, V. M. Kavsan\***

State Institution "Acad. A. P. Romodanov Institute of Neurosurgery NAMS Ukraine",  
04050 Kyiv

\*Institute of Molecular Biology and Genetics NAS Ukraine, 03680 Kyiv

Literature data and results of own research concerning the features of meningiomas biology, cytological anomalies and changes of gene expression in these neoplasms are presented. Changes of gene expression in certain tumour variants have evidenced pathogenetic and morphogenetic characteristics of various meningiomas subtypes. The established patterns of steroid hormones distribution and proliferative activity of meningiomas favour the optimization and personalization of therapeutic regimens and prognosis.