

*В.В. Кондратюк
М.С. Кваша
Г.А. Шмельова*

*Інститут нейрохірургії
ім. А.П. Ромоданова АМН
України, Київ, Україна*

Ключові слова: *множинні
менінгіоми, морфологічна
характеристика, Ki-67.*

ЕКСПРЕСІЯ БІЛКА Ki-67 У КЛІТИНАХ МНОЖИННИХ МЕНІНГІОМ

Резюме. *Досліджено і порівняно гістологічну структуру та проліферативний потенціал (рівень експресії Ki-67) первинно та вторинно множинних менінгіом (ММ). Показано, що різні пухлинні вузли одного й того ж хворого можуть належати до різних гістологічних варіантів, мати різний ступінь анаплазії та різну проліферативну активність, що вказує на багатоголищевий характер пухлинного процесу. При розвитку вторинних ММ відзначають наростання атипії та підвищення експресії Ki-67.*

ВСТУП

Менінгіоми головного мозку становлять 20–24% усіх пухлин нервової системи. У переважній більшості це доброякісні пухлини, але частина з них має тенденцію до рецидиву, малігнізації, метастазування навіть при тотальному видаленні. Множинні менінгіоми (ММ) виявляють у 1–10% хворих з менінгіомами, вони — самостійна клінічна форма, що характеризується тенденцією до проградієнтного клінічного перебігу. Також ММ виявляють у структурі нейрофіброматозу II типу. Протягом останніх років широко використовують імуногістохімічне визначення ряду білків-маркерів для оцінки проліферативної активності новоутворень [1, 10, 16, 17, 20, 21, 26, 32, 35, 36]. Відомо, що кількість клітин, які експресують ядерний білок Ki-67, достовірно відображає проліферативну активність пухлини, а індекс проліферації (ІП) — один з важливих показників при верифікації клінічного прогнозу різних пухлин нервової системи [4, 11, 12, 25], у тому числі менінгіом [2, 5, 8, 18, 19, 22, 30]. Дані різних публікацій про величину ІП у менінгіомах коливаються залежно від гістоструктури останніх від 0,5 до 35% (у деяких — до 55%) [14, 23, 24, 27]. До того ж у літературі зустрічаються лише поодинокі повідомлення про визначення ІП (за експресією Ki-67) у ММ. За повідомленням F. Roser і співавторів [31], імуногістохімічне дослідження менінгіом проведено 20 хворим з нейрофіброматозом II типу, але ці результати не внесені до загального аналізу.

Мета роботи — визначення та зіставлення варіантів клінічного перебігу захворювання у хворих з ММ супратенторіальної локалізації, морфологічних характеристик останніх, аналіз ІП у пухлинних вузлах.

ОБ'ЄКТ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Клінічний аналіз проведено на підставі обстеження та лікування хворих з ММ (93 хворих), які протягом 1984–2005 рр. були госпіталізовані у Інститут нейрохірургії ім. А.П. Ромоданова. Усіх хворих прооперовано, проведено гістологічне дослідження видалених менінгіом. Матеріалом для імуногістохімічного дослідження була тканина менінгіом 13 хворих віком від 40 до 67 років (чоловіків — 3, жінок — 10).

Клініко-діагностичне обстеження включало огляд нейрохірурга, офтальмолога, отоневролога, психоневролога. Можливості неврологічної діагностики ММ обмежені внаслідок домінування симптоматики окремого (найбільшого) пухлинного вузла та відсутності клінічних проявів інших пухлин у більшості випадків. З інструментальних методів діагностики ураження головного мозку використовували комп'ютерну томографію, магнітно-резонансну томографію, каротидну та селективну ангіографію, магнітно-резонансну ангіографію, радіоізотопну сцинтиграфію. Основний метод визначення кількості та локалізації ММ — магнітно-резонансна томографія, особливо з використанням внутрішньовенного введення контрастної речовини. Гістологічне дослідження проводили після забарвлення зрізів операційного матеріалу гематоксиліном еозіном і за методом Ван-Гізона. Проліферативний потенціал пухлини оцінювали за експресією білка Ki-67, який присутній в активних фазах клітинного циклу (G1, S, G2 і M). Для імуногістохімічного дослідження проводили фіксацію матеріалу протягом 18–24 год 10% розчином нейтрального забуферного формаліну та заливали парафіном. Це дослідження проводили на зрізах товщиною 5 мкм, що розміщували на адгезивні скельця. Використовували моноклональні антитіла до білка Ki-67. Імунне забарвлення візуалізували стрептовідін-біотиновим методом з використанням набору LSAB («ДАКО», Данія).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Клінічна картина ММ складалась з таких симптомів: загальноомозкова симптоматика виявлена у 56 хворих, вогнищева — у 18; поєднання загальноомозкових і вогнищевих симптомів — у 19 хворих. У 10 хворих відзначали епісиндром. Звертає увагу значна кількість хворих із загальноомозковою симптоматикою, що може бути зумовлене наступним: за рахунок множинності пухлин відбувається підвищення внутрішньочерепного тиску, порушення ліквородинаміки, збільшення об'єму мозку (за рахунок набряку), подразнення судин та оболонок мозку. Гіпертензійний синдром виявлено у 12 хворих і частіше (у 8 випадках) його виявляли при поєднанні ММ

супратенторіальної локалізації з невріномами або менінгіомами задньої черепної ямки. У більшості хворих (84%) симптоми захворювання з'явилися за 1–3 роки до госпіталізації, у 14% — від 3 до 10 років, у 2% — більш як за 10 років. У 1 випадку анамнез становив 35 років.

Для проведення аналізу отриманих результатів, хворих розподілили на 3 групи згідно з характером розвитку ММ. До 1-ї групи (первинно-множинні менінгіоми) увійшли хворі, у яких діагностовано ММ при первинному обстеженні; до 2-ї (вторинно-множинні менінгіоми) — хворі, у яких ММ з'явилися після перенесеної первинної операції з приводу менінгіоми поряд з місцем попередньої операції (мультицентричність росту), а також на певній відстані (місцеве метастазування). 3-ю групу становлять 11 хворих, у яких виявлено ММ разом з симптомами нейрофіброматозу другого типу (НФ2), у 1-шу групу увійшло 64 хворих: жінок — 34, чоловіків — 30. Вік хворих становив від 13 до 79 років (середній вік від $48,6 \pm 1,7$). Усіх хворих прооперовано. У 2-гу увійшли 18 хворих: чоловіків — 8, жінок — 10. Усіх хворих прооперовано від двох до восьми разів, у середньому — 2,8 операцій на одного хворого. Вік хворих становив від 35 до 69 років (середній вік від $56,1 \pm 2,5$). У 2 хворих (жінки) виявляли метастазування менінгіом під апоневроз поза межами післяопераційного рубця на відстані 3–4 см. У 3 хворих ММ з'явилися після 1-ї операції, у інших — після 3-ї. Період ремісії становив з останньої операції до моменту діагностування ММ від 7 до 96 міс. При порівнянні даних гістологічного дослідження видалених пухлин при багаторазових оперативних втручаннях встановлено наростання атипії пухлин у всіх випадках (табл. 1).

Таблиця 1
Динаміка розвитку вторинно-множинних менінгіом з урахуванням їх гістоструктури та ІП

Пацієнт	Стать	Вік (років)	1-ша операція ²	Ремісія (міс)	2-га операція ²	Ремісія (міс)	ММ ²	ІП (% клітин експресують Ki-67)
1	Ж	59	II	12	II	12	III	40
2 ¹	Ж	61	I	96	—	—	II	47
3	Ч	58	I	15	II	7	II	43
4 ¹	Ч	44	I	44	—	—	II	1
5	Ж	63	II	48	III	12	III	32
6 ¹	Ж	60	I	96	—	—	II	5

¹ММ з'явилися після 1-го оперативного втручання; ²I, II, III ступінь атипії менінгіом.

Відповідно до класифікації пухлин нервової системи ВООЗ (1993, 2000) менінгіоми поділяють на 3 типи гістоструктури (ступені анаплазії): I — типові, II — атипіві, III — анапластичні. Розподіл хворих за ступенем анаплазії та характером розвитку ММ наведено у табл. 2.

Таблиця 2
Розподіл хворих у різних клінічних групах за ступенем анаплазії

ММ	Первинно-множинні, %	Вторинно-множинні, %	ММ у структурі НФ2, %
Типові	9,3	38,8	63,6
Атипіві	79,8	33,3	27,3
Анапластичні	10,9	27,9	9,1

У групі первинно-множинних менінгіом у значній кількості прооперованих хворих діагностовано ати-

пові (79,8%) і анапластичні (10,9%) менінгіоми, тоді як типової структури — тільки 9,3%. Отримані нами результати суперечать існуючим даним про переважну кількість менінгіом типової структури у хворих з поодинокими пухлинами (атипіві і анапластичні менінгіоми становлять 10–20%) [22]. Це може відображати первинну біологічну агресивність ММ.

Серед типових менінгіом (I тип) нами виявлено такі гістологічні варіанти: 1) менінготеліоматозний, 2) фібробластичний, 3) ангіоматозний, 4) змішаний. Типові менінгіоми характеризуються рівномірним розташуванням клітин і помірним поліморфізмом ядер, фігури мітозів рідкі, а вогнища некрозів — відсутні. Атипіві менінгіоми мають структуру близьку до типових, але відрізняються деякими гістологічними особливостями: вираженим поліморфізмом клітин і ядер, ділянками щільного розташування клітин з дрібними ядрами і без видимої цитоплазми. Для атипівіх менінгіом характерно формування вогнищ некрозів і поява у пухлині фігур мітотичного поділу — у середньому до 1 у полі зору. Анапластичні (злаякісні) менінгіоми мають різко виражену структурну та клітинну атипію, що проявляється вираженим клітинно-ядерним поліморфізмом або наявністю мономорфних клітин з гіперхромними ядрами. Загальні гістологічні ознаки злаякісних менінгіом — дуже щільне розташування клітин по всій структурі пухлини, а також наявність множинних фігур мітозів (від 10–15 в одному полі зору) і вогнищ некрозу різних розмірів. У хворих з ММ виявляють поєднання пухлин різного ступеня злаякісності.

При гістологічному дослідженні одночасно видалених ММ виявляли різноманітність гістоструктури цих пухлин. Так, у 5 хворих виявлені вузли як менінготеліоматозні, так і фібробластичні; фібробластичні й ангіоматозні; фібробластичні й атипіві; фібробластичні та анапластичні. Повідомлення Т. Tomita і співавторів [37] співпадає з нашими результатами. Вони описують випадок видалення двох менінгіом різної гістоструктури у хворої віком 61 рік: парасагітальна менінгіома була фібробластична (Ki-67 — 1%), а сфеноїдальна — анапластична (Ki-67 — 30%). Б.С. Хомінський [3] вказував, що у різних ділянках менінгіоми можуть бути відмінності у гістологічній структурі. За даними Н. Huang і співавторів [13] з 19 хворих з ММ, яким проведено видалення пухлин, 12 мали однакову гістоструктуру пухлин, а 7 хворих — різні гістологічні типи. Накопичений на сьогодні матеріал дає підстави стверджувати, що ММ — група клітинної гетерогенності, яка при однотипній локалізації та морфологічній будові пухлин має індивідуальну чутливість до іонізації, цитостатиків, гормонального лікування, імунотерапії [27, 28].

D. Simpson [33] запропонував градацію радикальності видалення менінгіом, яку використовують у всьому світі. Але результати ретроспективних багаточентрових досліджень свідчать, що навіть при радикальному (Simpson 1) видаленні конвексіальних

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

менінгіом, рецидив через 5, 10 і 15 років відзначають у 7, 20 і 32% відповідно [15], а при субтотальному — продовжений ріст у 37, 55 і 91% з високим ступенем повторної операції (25, 44 і 84% відповідно) [29]. Ймовірність рецидиву менінгіом залежить від її гістобіологічних властивостей, локалізації та об'єму хірургічного втручання [6, 33]. Так, при менінгіомах типової, атипичної і анапластичної структури (класифікація ВООЗ), рецидив через 5 років відзначали у 3, 38 і 78% відповідно [15]. При сфеноїдальних менінгіомах, при тотальному видаленні — через 5 і 10 років у 34 і 54% відповідно [29]. За даними О. De Jesus і співавторів [9] у групі з менінгіомами кавернозного синуса (119 хворих) тотальне видалення проведено у 61%; рецидив через 5 років відзначали у 19% випадків, а при частковому видаленні — у 38%. За матеріалами клініки Mayo (581 первинно оперований хворий з менінгіомами), S.L. Stafford і співавтори [34] показали, що ймовірність продовженого росту менінгіом підвищується у чоловіків до 40 років при частковому видаленні пухлини і при розташуванні пухлини у оптихазмальній ділянці, а також при підвищеному мітичному індексі менінгіом. При 10-річному терміні спостереження кількість рецидивів становила 25% при тотальному і 61% — при частковому видаленні пухлини.

Тактика хірургічного лікування ММ була направлена на видалення пухлинного вузла, що викликає неврологічну симптоматику і створює умови для розвитку оклюзії лікворних шляхів, а при можливості і інших пухлинних вузлів у ділянці операційного доступу. Повторне оперативне втручання планували залежно від загального стану хворого і вираженості гіпертензійного синдрому. 4 хворих (6%) оперовані через 15–20 днів після першої операції у зв'язку із збереженням гіпертензійного синдрому (на очному дні зберігались виражені застійні диски зорових нервів, ускладнені плазморагіями). 7 хворих — 3 і більше разів (максимально 8 операцій) протягом 4–12 років.

Результати одночасного гістологічного та імуногістохімічного дослідження ММ наведено у табл. 3.

Таблиця 3
Розподіл ММ за гістоструктурою та експресією Ki-67

Характер ММ	Типи гістоструктури			Всього	ІП* (%)
	I	II	III		
Первинно-множинні	4	3	0	7	9,5 (0,5–41,0)
Вторинно-множинні	1	3	2	6	28,0 (1,0–47,0)

*Наведені середні значення ІП для первинно- та вторинно-множинних менінгіом; у дужках — граничні індивідуальні коливання експресії Ki-67.

Імуногістохімічне забарвлення Ki-67 виявляли у різних вузлах одного і того ж хворого з неоднаковою частотою. Різні значення ІП для ММ може свідчити про гетерогенність менінгеальних вузлів. Попри виразні індивідуальні коливання звертає увагу значна відмінність середнього значення ІП у двох групах: при вторинно-множинних пухлинах проліферативна активність — вища. Якщо оцінювати отримані ре-

зультати порівняно з поодинокими менінгіомами, величина Ki-67 у яких збільшується з кожною наступною операцією, можна підтвердити попередній висновок про наростання пухлинної атипії.

Отримані дані можуть бути використані для планування консервативної терапії (хіміо-, гормоно-, променева терапія), визначення терміну післяопераційного контрольного томографічного обстеження та прогнозування перебігу захворювання.

ВИСНОВКИ

1. ММ головного мозку — гетерогенна група, що відображає багатоголищевий характер пухлинного процесу.

2. Вторинно-множинні менінгіоми характеризуються наростанням атипії, підвищенням експресії Ki-67, високою біологічною агресивністю і тенденцією до продовженого росту та малігнізації.

ПОДЯКА

Автори роботи вдячні за надану допомогу у проведенні досліджень та у підготовці статті Л.М. Захарцевій (канд. мед. наук, заввідділенням патоморфології міської онкологічної лікарні).

ЛІТЕРАТУРА

1. **Копнин БП.** Мишени действия онкогенов и опухолевых супрессоров: ключ к пониманию базовых механизмов канцерогенеза. Биохимия 2000; **65**: 5–33.
2. **Коршунов АГ, Шишкина ЛВ, Голанов АВ.** Проліферативные маркеры в менингиомах: иммуногистохимическое исследование и анализ прогностической значимости. Архив патол 2002; **64**: 29–33.
3. **Хоминский БС.** Патоморфология и классификация менингиом (арахноидэндотелиом). Архив патол 1958; **20** (6): 3–20.
4. **Шацева ТА, Мухина МС.** Антиген Ki-67 в оценке опухолевой пролиферации. Его структура и функции. Вопр онкологии 2004; **50** (2): 157–64.
5. **Abramovich C, Prayson RA.** MIB-1 labelling indices in benign, aggressive, and malignant meningiomas study of 90 tumors. Hum Pathol 1998; **29**: 1420–7.
6. **Adegbite AB, Khan MI, Paine KWE, Tan LK.** The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. J Neurosurg 1983; **58**: 51–6.
7. **Akeyson EW, McCutcheon IE.** Management of Benign and Aggressive Intracranial Meningiomas. Oncology 1996; **10** (5): 747–59.
8. **Cattoretti G, Becker MHG, Key G, et al.** Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB-1 and MIB-3) detect proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections. J Pathol 1992; **168**: 357–63.
9. **De Jesus O, Sekhar LN, Parikh HK, et al.** Long-term follow up of patients with meningiomas involving the cavernous sinus: recurrence, progression, and quality of life. Neurosurgery 1996; **39**: 915–20.
10. **Holden JA, Townsend JJ.** DNA topoisomerase II-alpha as a proliferation marker in astrocytic neoplasms of the central nervous system: correlation with MIB1 expression and patient survival. Mod Pathol 1999; **12**: 1094–100.
11. **Hopf NJ, Bremm J, Bohl J, Perneczky A.** Image analysis of proliferating cells in tumors of the human nervous system: an immunohistological study with monoclonal Antibody Ki67. Neurosurg 1994; **35**: 917–23.
12. **Hsu DW, Efid JT, Hedley WET.** MIB-1 (Ki-67) index and transforming growth factor-alpha (TGF alpha) immunoreactivi-

ty are significant prognostic predictors for meningiomas. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1998; **24**: 441–52.

13. **Huang H, Buhl R, Hugo HH, Mehdorn HM.** Clinical and histological features of multiple meningiomas compared with solitary meningiomas. *Neurol Res* 2005; **27** (3): 324–32.

14. **Ikeda H, Yoshimoto T.** Immunohistochemical study of anaplastic meningioma with special reference to the phenotypic change of intermediate filament protein. *Ann Diagn Pathol* 2003; **7** (4): 214–22.

15. **Jääskeläinen J.** Seemingly complete removal of histologically benign intracranial meningioma: Late recurrence rate and factors predicting recurrence in 657 patient. *Surg Neurol* 1986; **25**: 461–9.

16. **Kakinuma K, Tanaka R, Onda K, Takahashi H.** Proliferative potential of recurrent intracranial meningiomas as evaluated by labelling indices of BDUR and Ki-67, and tumour doubling time. *Acta Neurochir* 1998; **140**: 26–31.

17. **Kämmerer U, Kapp M, Gassel AM, et al.** A new rapid immunohistochemical staining technique using the EnVision antibody complex. *J Histochem Cytochem* 2001; **49**: 623–30.

18. **Karamitopoulou E, Perentes E, Tolnay M, Probst A.** Prognostic significance of MIB-1, p53, and bcl-2 immunoreactivity in meningiomas. *Hum Pathol* 1998; **29**: 140–5.

19. **Kolles H, Niedermayer I, Schmitt C.** Triple approach for diagnosis and grading of meningiomas histology, morphometry of Ki-67/Feulgen stainings, and cytogenesis. *Acta Neurochir Wien* 1995; **137**: 174–81.

20. **Konstantinidou A, Patsorius E, Korkolopoulou P, et al.** DNA topoisomerase II alpha expression correlates with cell proliferation but not with recurrence in intracranial meningiomas. *Histopathology* 2001; **39**: 402–8.

21. **Kunishio K, Morisaki K, Matsumoto Y, Nagao S.** DNA topoisomerase II alpha protein and mRNA expression in intracranial meningiomas. *Brain Tumor Pathol* 2000; **17**: 105–10.

22. **Lanzafame S, Torrsi A, Barbagallo G, et al.** Correlation between histological grade, MIB-1, p53, and recurrence in 69 completely resected primary intracranial meningiomas with a 6 year mean follow-up. *Pathol Res Pract* 2000; **196**: 483–8.

23. **Louis D, Edgerton S, Thor A, Hedley-Whyte E.** Proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 immunohistochemistry in brain tumors: a comparative study. *Acta Neuropathol* 1991; **81**: 675–9.

24. **Madsen C, Shroder HD.** Ki-67 immunoreactivity in meningiomas determination of the proliferative potential of meningiomas using the monoclonal antibody Ki-67. *Clin Neuropathol* 1997; **16**: 137–42.

25. **Matsuno A, Fujimaki T, Sakaki T.** Clinical and histopathological analysis of proliferative potentials of recurrent and non-recurrent meningiomas. *Acta Neuropathol* 1996; **91**: 504–10.

26. **Nakabayashi Hiromichi, Shimizu Keiji, Hara Mitsuhiro.** Prognostic Significance of Cyclin A Expression in Meningiomas. *Applied Immunohistochem Mol Morphol* 2003; **11** (1): 9–14.

27. **Nakaguchi H, Fujimaki T, Matsuno A.** Postoperative residual tumor growth of meningioma can be predicted by MIB-1 immunohistochemistry. *Cancer* 1992; **85**: 2249–54.

28. **Nakasu S, Nakajima M, Matsumura K, et al.** Meningiomas proliferating potential and clinicoradiological features. *Neurosurgery* 1995; **37**: 1049–55.

29. **Newman SA.** Meningiomas: A quest for the optimum therapy. *J Neurosurg.* 1994; **80**: 191–4.

30. **Perry A, Stafford S, Scheithauer B, et al.** The prognostic significance of MIB-1, p53 and flow-cytometry in completely resected primary meningiomas. *Cancer* 1998; **82**: 2262–9.

31. **Roser F, Samii M, Ostertag H, Bellinzona M.** The Ki-67 proliferation antigen in meningiomas. Experience in 600 cases. *Acta Neurochir (Wien)* 2003; **146** (1): 37–42.

32. **Shibuya M, Ito S, Miwa T, et al.** Proliferative potential of brain tumors, analyses with Ki-67 and anti-DNA polymerase alpha monoclonal antibodies, bromodeoxyuridine labeling, and nucleolar organizer region counts. *Cancer* 1993; **71**: 199–206.

33. **Simpson D.** The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1957; **20**: 22–39.

34. **Stafford S, Perry A, Suman V, et al.** Primarily Resected Meningiomas: Outcome and Prognostic Factors in 581 Mayo Clinic Patients, 1978 Through 1988. *Mayo Clin Proc* 1998; **73**: 936–42.

35. **Striepecke E, Handt S, Weis J, et al.** Correlation of histology, cytogenetics and proliferation fraction (Ki-67 and PCNA) quantitated by image analysis in meningiomas. *Pathol Res Pract* 1996; **192**: 816–24.

36. **Takeuchi H, Kubota T, Kabuto M, et al.** Prediction in recurrence of histologically benign meningiomas: PCNA and Ki-67 immunohistochemical study. *Surg Neurol* 1997; **48**: 501–6.

37. **Tomita T, Kurimoto M, Yamatani K, et al.** Multiple meningiomas consisting of fibrous meningiomas and anaplastic meningiomas. *J Clin Neuroscience* 2003; **10** (5): 622–4.

DIFFERENCE IN THE PROLIFERATIVE INDICES OF KI-67 IN PATIENTS WITH MULTIPLE MENINGIOMA

V.V. Kondratyuk, M.S. Kvasha, G.A. Shmelyova

Summary. *Histological structure and proliferative potential (Ki-67 expression level) in primary and secondary multiple meningiomas (MM) is studied and compared. It is shown that various tumor nodes of the same patient may have different histological patterns, varying level of anaplasia, and different proliferative activity suggesting a multifocal pattern of the tumor process. Development of secondary MMs is associated with increased atypia and Ki-67 expression levels.*

Key Words: multiple meningiomas, morphologic pattern, Ki-67.

Адреса для листування:

Кондратюк В.В.

04050, Київ, вул. Мануїльського, 32

Інститут нейрохірургії ім. А.П. Ромоданова
АМН України