

Ukr Neurosurg J. 2023;29(2):35-42
doi: 10.25305/unj.276874

Прогностична роль імуногістохімічних маркерів Ki67, p53, Her2 та CyD1 при рецидивах парасагітальних менингіом

А.Г. Сірко^{1,3}, І.С. Шпонька², В.А. Перепелиця^{1,4}, І.О. Молокова²

¹ Кафедра нервових хвороб та нейрохірургії ФПО, Дніпровський державний медичний університет, Дніпро, Україна

² Кафедра патологічної анатомії, судової медицини та патологічної фізіології, Дніпровський державний медичний університет, Дніпро, Україна

³ Центр церебральної нейрохірургії, Дніпропетровська обласна клінічна лікарня імені І.І. Мечникова, Дніпро, Україна

⁴ Ендоваскулярний центр, Дніпропетровська обласна клінічна лікарня імені І.І. Мечникова, Дніпро, Україна

Надійшла до редакції 08.04.2023

Прийнята до публікації 15.05.2023

Адреса для листування:

Перепелиця Вадим Андрійович,
Ендоваскулярний центр,
Дніпропетровська обласна клінічна лікарня імені І.І. Мечникова,
площа Соборна, 14, Дніпро, 49044,
Україна, e-mail: neuro.perepelitsa@gmail.com

Мета: установити значення імуногістохімічних маркерів Ki67, p53, Her2 та CyD1 для прогнозування рецидивів парасагітальних менингіом.

Матеріали і методи. Проведено імуногістохімічне дослідження 26 пацієнтам із парасагітальними менингіомами (ПМ) віком від 36 до 72 років, які перебували на лікуванні в Дніпропетровській обласній клінічній лікарні імені І.І. Мечникова в період з 2000 до 2021 рр. За допомогою методу врівноваження (парно-пов'язаний відбір) сформовано дві вибірки з максимально схожими характеристиками (стать і вік пацієнта, ступінь злоякісності менингіоми під час первинного хірургічного втручання). Основну підгрупу утворили 13 (50%) хворих із виявленим рецидивом/продовженим ростом ПМ після хірургічного втручання, контрольну – 13 (50%) пацієнтів без рецидивів ПМ. Вивчали експресію пухлинами маркера клітинної проліферації (Ki67), стабільність геному (p53), порушення функціонування сигнальних шляхів (епідермальний фактор росту (ERBB2), або Her-2/neu (Her2)) і регулятори клітинного циклу (циклін D1 (CyD1)) для визначення перспектив подальших досліджень.

Результати. Виявлено помірну асоціацію між високою проліферативною активністю ПМ і рецидивуванням ($r_s=0,44$, $p=0,025$). Медіана рівня Ki-67 в основній підгрупі втричі перевищувала аналогічний показник у контрольній підгрупі – 6,0 (4,0;9,0) та 2,0 (0,5;4,5) % ($p=0,029$). При експресії Ki67 >4,5% ризик рецидиву/продовженого росту ПМ зростає у 7,5 рази (відношення шансів – 7,5, 95% довірчий інтервал (ДІ) – 1,3–43,0, площа під ROC-кривою (AUC) – 0,751 (95% ДІ – 0,544–0,898), $p=0,011$). За даними порівняльного і кореляційного аналізу не виявлено статистично значущий взаємозв'язок між гіперекспресією білка p53 та рецидивуванням ПМ ($r_s=0,23$, $p=0,254$), а також між рецидивуванням ПМ і наявністю експресії CyD1 ($r_s=0,29$, $p=0,147$) або її виразністю ($r_s=-0,08$, $p=0,696$). Кореляційний взаємозв'язок між виразністю експресії Her2 на клітинах ПМ та їхнім рецидивуванням був статистично незначущим ($r_s=0,23$, $p=0,251$). Ступінь злоякісності первинної ПМ (Grade II-III) збільшує ризик несприятливого прогнозу в 5,3 рази (95% ДІ – 1,0–29,4, AUC = 0,722 (95% ДІ – 0,513–0,878), $p=0,016$, чутливість – 61,5%, специфічність – 76,9%).

Висновки. Вірогідними предикторами рецидивування ПМ після первинного хірургічного втручання (впродовж 20 років спостереження) є підвищення індексу проліферації Ki67 >4,5% та II-III ступінь злоякісності пухлини. За результатами порівняльного і кореляційного аналізу не виявлено статистично значущого зв'язку між рецидивуванням пухлини та імуногістохімічними маркерами p53, Her2 і CyD1. Статистично значуща кореляція експресії маркерів p53, Her2 та CyD1 з індексом проліферації Ki67 і ступенем злоякісності пухлини потребує подальшого вивчення із залученням більшої кількості клінічних спостережень.

Ключові слова: парасагітальна менингіома; хірургія парасагітальних менингіом; верхній сагітальний синус; продовжений ріст; рецидиви; прогноз; чинники ризику; Ki67; p53; CyD1; Her2

Вступ

Менингіома – найпоширеніша інтракраніальна пухлина, на частку якої припадає 18–34% від усіх первинних новоутворень головного мозку. Найчастіше менингіома є доброякісним новоутворенням із повільним ростом і походить із менинготеліальних клітин [1–3]. Згідно з класифікацією ВООЗ [3, 4] виділяють 3 ступені злоякісності менингіоми,

приналежність до яких установлюють за гістологічним підтипом пухлини. Серед менингіом переважають пухлини зі ступенем злоякісності Grade I (близько 80,5%) [1, 3], які мають доброякісний клінічний перебіг, але рецидивують із частотою від 7,0 до 20,0% переважно у молодих пацієнтів та чоловіків [5]. Менингіоми зі ступенем злоякісності Grade II та Grade III трапляються відповідно у 17,7 і 1,7% випадків. Вони

Copyright © 2023 А.Г. Сірко, І.С. Шпонька, В.А. Перепелиця, І.О. Молокова



Робота опублікована під ліцензією Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

характеризуються більшою мітотичною активністю, клінічно агресивною поведінкою та значно вищою частотою рецидивування – 29–59 і 60–94% відповідно [1, 3, 6, 7]. Класифікація ВООЗ не передбачає оцінку молекулярно-генетичних особливостей менінгіом, але згідно з останніми дослідженнями [8, 9] вони можуть бути надійними предикторами рецидиву, агресивнішої клінічної поведінки, а отже, корисними для індивідуалізації тактики лікування.

Парасагітальні менінгіоми (ПМ) трапляються в 24,3–38,6% спостережень. За даними зарубіжних авторів [5, 10, 11], порівняно з менінгіомами іншої локалізації ПМ схильніші до рецидиву (від 18 до 40%). Це пояснюється не лише топографо-анатомічним розташуванням пухлини щодо внутрішньочерепних структур, що ускладнює радикальне і безпечне хірургічне втручання [11, 12]. Частота виявлення менінгіом Grade II та III серед пухлин парасагітальної локалізації також вища. Більшість авторів [10, 12–14] укажуть на залежність рецидиву менінгіоми від статі пацієнта, характеру ураження верхнього сагітального синуса (ВСС) та радикальності видалення пухлини. За даними інших авторів [15], ризик рецидивування/продовженого росту ПМ збільшується: 1) у 7,04 разу при початковому розмірі >54 мм; 2) у 5,57 разу за нерадикального видалення пухлини під час первинного втручання (Simpson II-V); 3) у 10,1 разу при I-II типі інвазії ПМ у ВСС та неповному видаленні пухлини (Simpson II-V); 4) у 3,25 разу у пацієнтів чоловічої статі; 5) у 3,33 разу при IV типі інвазії у ВСС (за М.Р. Sindou and J.E. Alvernia). Однак навіть у разі сприятливих умов спостерігаються випадки рецидивування пухлини. Менінгіоми іншої локалізації, наприклад, мосто-мозочкового кута, розташування яких щодо внутрішньочерепних структур також значно ускладнює хірургічне втручання, менш схильні до рецидивування/продовженого росту, ніж менінгіоми ВСС [16]. Деякі автори [17–23] такий агресивний клінічний перебіг пояснюють імуногістохімічними та молекулярно-біологічними особливостями менінгіом ВСС.

За даними літератури, Ki67 є найбільш значущим маркером щодо прогнозування рецидиву менінгіом. Ki67 – ядерний протеїн, який експресується у G1, S, G2 і M-фазах клітинного циклу, але відсутній у фазах G0 та ранній G1 [21, 24]. Він є маркером клітинної проліферації, який статистично значущо корелює із несприятливим клінічним прогнозом для солідних пухлин багатьох локалізацій [22, 23]. Згідно з даними досліджень, цей білок є ефективним для визначення індексу проліферації у менінгіомах. Його використовують у клінічній практиці, оскільки він пов'язаний із мітотичним індексом і гістопатологічним класом у менінгіом [17].

З інших маркерів виділяють ядерний фосфопротеїн p53, який є найважливішим елементом сигнального шляху супресії пухлинного росту через припинення клітинного циклу і активацію апоптозу. Збільшення його експресії, як результат порушення зазначених процесів, виявляють у близько половини злоякісних пухлин [22].

CyD1 – це протоонкоген, який є мітогенним сенсором, оскільки його роль полягає у регуляції переходу клітини із фази G1 клітинного циклу у фазу S [25], після чого відбувається поділ клітини.

Деякі дослідники повідомляють про наявність прямо пропорційного взаємозв'язку між його експресією та ступенем злоякісності менінгіом [26].

Her-2/neu (Her2) – тирозинкіназний рецептор сімейства епідермального фактора росту (ERBB2). Його гіперекспресію виявлено у низці злоякісних пухлин людини (аденокарцинома ендометрію, рак молочної залози, шлунка та сечового міхура) [18–20]. За даними досліджень, він обернено пропорційно корелює з експресією рецепторів прогестерону та прямо пропорційно – з Ki67 [27].

Отже, вивчення потенційної ролі зазначених імуногістохімічних маркерів у прогнозуванні рецидиву ПМ може бути корисним для вибору найоптимальнішої тактики лікування та післяопераційного спостереження.

Мета: установити значення імуногістохімічних маркерів Ki67, p53, Her2 та CyD1 у прогнозуванні рецидивів парасагітальних менінгіом.

Матеріали і методи

Учасники дослідження

Проведено імуногістохімічне дослідження 26 пацієнтам із ПМ віком від 36 до 72 років, які перебували на лікуванні в Дніпропетровській обласній клінічній лікарні імені І.І. Мечникова в період з 2000 до 2021 рр.

Від усіх пацієнтів отримано письмову інформовану згоду на проведення дослідження згідно із Гельсінською декларацією Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008), директивою Європейського товариства 86/609 щодо участі людей у медико-біологічних дослідженнях, а також наказом МОЗ України зі змінами № 690 від 23.09.2009 р.

Проведення дослідження схвалено комітетом з етики та біоетики Дніпровського державного медичного університету (протокол дослідження №1 від 10.02.2020 р.). Робота є частиною науково-дослідної роботи кафедри нервних хвороб та нейрохірургії факультету післядипломної освіти Дніпровського державного медичного університету (номер держреєстрації 2 від 18.02.2020 р.).

Критерії залучення

Вік пацієнтів ≥ 18 років, парасагітальна локалізація позамозкової пухлини за результатами комп'ютерної (КТ) і магнітно-резонансної (МРТ) томографії, гістологічна верифікація діагнозу менінгіоми.

Характеристики груп

Із 26 хворих методом урівноваження (парно-пов'язаний відбір) сформовано дві вибірки із максимально схожими характеристиками (стать і вік пацієнта, ступінь злоякісності менінгіоми під час первинного хірургічного втручання). Основну підгрупу утворили 13 (50%) пацієнтів із виявленим рецидивом/продовженим ростом ПМ після хірургічного втручання, контрольну – 13 (50%) пацієнтів без рецидивів ПМ. В обох підгрупах було 8 (62%) пацієнтів жіночої статі та 5 (38%) – чоловічої статі ($p=1,0$). Середній вік – 59 (54; 65) і 58 (50; 65) років ($p=0,738$).

Тривалість міжрецидивного періоду в основній підгрупі становила від 1 до 13 років (медіана – 3 роки (міжквартильний інтервал – 2–6 років)).

Для пошуку перспективних маркерів прогнозу та рецидивування ПМ досліджували експресію пухлинами Ki67, стабільність геному (p53), порушення функціонування сигнальних шляхів (ERBB2, або Her2) та регуляторів клітинного циклу (циклін D1 (CyD1)).

Оцінювання виразності експресії проводили для кожного маркера окремо:

- для характеристики експресії Ki-67 і p53 обчислювали частку клітин із забарвленими ядрами (відсоток загальної кількості пухлинних клітин) – від 0 до 100%;

- імуногістохімічні реакції з маркером CyD1 оцінювали напівкількісним методом з такими рівнями: 0 – експресія відсутня (0%), 1 – слабка (<25%), 2 – помірна (25–50%), 3 – виразна (>50%);

- реакцію з маркером Her2 оцінювали напівкількісним методом: 0 – немає забарвлення або у менш ніж 10% клітин, 1 – слабе забарвлення частини мембран у більш ніж 10% клітин, 2 – слабе або помірне забарвлення всієї мембрани у більш ніж 10% клітин, 3 – виразне забарвлення всієї мембрани у більш ніж 30% клітин.

Дизайн дослідження

Одноцентрове ретро-проспективне порівняльне дослідження.

Патогістологічний метод

Парафінові блоки відібраних випадків отримано з архіву Дніпропетровського обласного патологоанатомічного бюро. Із них виготовлено зрізи завтовшки 4,0 мкм за допомогою ротаційного мікротома Microm HM340E (Thermo Scientific, Німеччина). Депарафінізовані та регідратовані зрізи забарвлювали гематоксином та еозином, обробляли імуногістохімічно і вивчали за допомогою мікроскопа Axio Imager 2 (Zeiss, Німеччина) при збільшенні 200, 400 та 630.

Ступінь злоякості менінгіом визначали за класифікацією ВООЗ [4]: Grade I – доброякісна менінгіома, Grade II – атипова менінгіома, Grade III – анапластична менінгіома.

Імуногістохімічний метод

Отримані за допомогою мікротома зрізи завтовшки 4,0 мкм наносили на адгезивні предметні скельця Superfrost Plus (Thermo Scientific, Німеччина), депарафінізували та регідратували у низхідних концентраціях алкоголю. Проводили демаскування антигенів шляхом обробки зрізів у цитратному буфері (pH=6,0) протягом 20 хв за температури 100 °C за допомогою PT Module (Thermo Scientific, Німеччина). Після охолодження та промивання у фосфатно-сольовому буфері (phosphate buffered saline (PBS)) здійснювали блокування ендогенної пероксидази протягом 10 хв за кімнатної температури. Як первинні використовували антитіла до CyD1, p53, Ki67 та Her2 (розводили у співвідношенні 1:1000–1:400, усі виробництва Abcam (Велика Британія)). Зрізи із первинними антитілами інкубували у вологій камері за температури 40 °C упродовж ночі. Подальшу обробку проводили з використанням системи візуалізації UltraVision Quanto (Thermo Scientific, США) згідно з інструкцією користувача. Для диференціювання структур тканин зрізи додатково фарбували гематоксином Джіла протягом 30 секунд.

Статистична обробка результатів

Обробку і аналіз даних проводили за допомогою пакетів програм Statistica 10 (StatSoft® Inc., США, ліцензія № STA862D175437Q) і MedCalc V.20.218 free

trial version (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org/download.php>, 2023). Через невеликий обсяг вибірок і невідповідність нормальному закону розподілу кількісних даних (за критерієм Шапіро-Уїлка) використовували непараметричні характеристики і методи порівняння: медіану (Me), міжквартильний розмах (25%; 75%), при парному порівнянні – критерій Манна-Уїтні (U), при множинному – критерій Данна (Q). Статистичну значущість відмінностей категоріальних даних оцінювали за χ^2 -критерієм Пірсона без поправки Йетса. Визначення прогностичної значущості чинників для оцінки ймовірності рецидивування пухлинного процесу після хірургічного втручання проводили за допомогою ROC-аналізу шляхом визначення точки розмежування значень показника в групах з наявністю та відсутністю рецидиву з розрахунком площі під ROC-кривою (AUC) та операційних характеристик (чутливість і специфічність). ROC-аналіз вважали адекватним при значеннях AUC >0,5 [28]. Оцінку показників ризику рецидивування проводили за показником відношення шансів (ВШ) з 95% довірчим інтервалом (ДІ). Критичним рівнем статистичної значущості (p) при перевірці всіх гіпотез вважали $\leq 0,05$, тенденцію відзначали при $p < 0,1$.

Результати та їх обговорення

За результатами морфологічного дослідження препаратів новоутворень, видалених під час першого хірургічного втручання, встановлено, що в кожній підгрупі 10 (77%) ПМ мали доброякісний характер (Grade I), 2 (15%) – відповідали критеріям Grade II (**Рис. 1**), 1 (8%) – Grade III ($p=1,0$). Під час другого втручання з приводу рецидивування пухлини у хворих основної підгрупи Grade I зафіксовано в 5 (38%) випадках, Grade II – у 2 (16%), Grade III – у 6 (46%) ($p=0,047$, $p=1,0$ і $p=0,027$ відповідно між підгрупами (за критерієм χ^2)).

Експресію Ki67 у досліджених ПМ (у діапазоні від 0,5 до 17%) виявлено у 23 (88%) випадках (**Рис. 2A**). Виявлено помірну асоціацію між високою проліферативною активністю ПМ і рецидивуванням ($r_s=0,44$, $p=0,025$). Медіана рівня Ki-67 в основній підгрупі ПМ втричі перевищувала аналогічний показник у контрольній підгрупі ($p=0,029$) (**Табл. 1**).

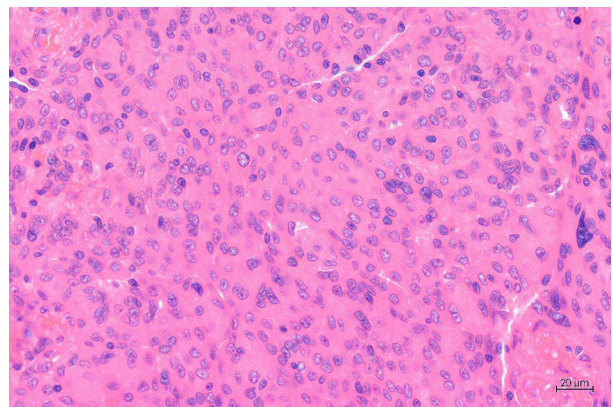


Рис. 1. Атипова менінгіома, Grade II, забарвлення гематоксином та еозином. $\times 400$

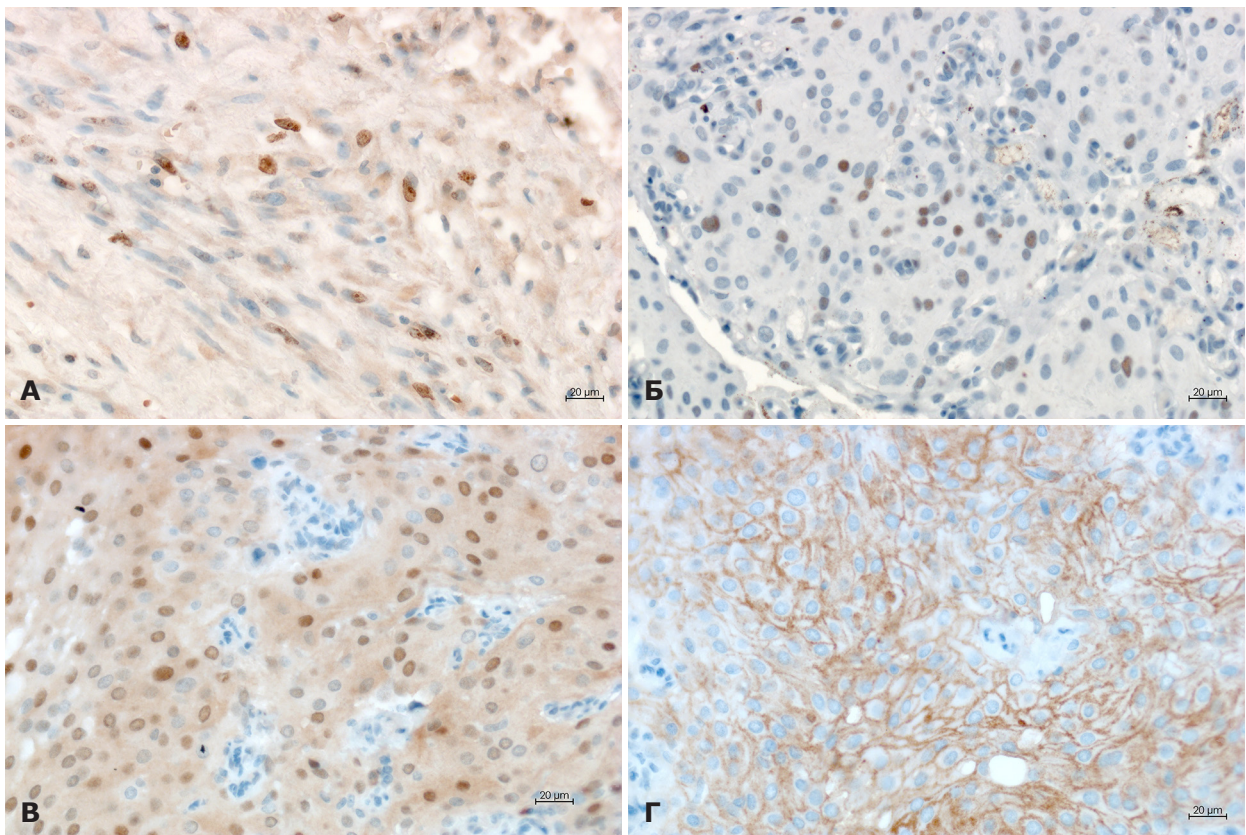


Рис. 2. Імунолокалізація пухлинних маркерів у ПМ ($\times 400$): А – ядерна експресія Ki67 у пухлинних клітинах, які перебувають поза фазою G0 (індекс проліферації – 6%); Б – експресія p53 у ядрах пухлинних клітин (позитивна – у 5% клітин); В – ядерна та слабка цитоплазматична експресія CyD1 у пухлинних клітинах (ядерна позитивна реакція у 43% клітин); Г – мембранна експресія Her2 у пухлинних клітинах (реакція у більш ніж 10% клітин)

Показник Ki67 для менингіом Grade I становив від 0 до 5%, для Grade II – від 6 до 9%, для анапластичної менингіоми Grade III – від 5 до 17% (**див. Табл. 1**). Отже, існує тісна залежність між проліферативною активністю і ступенем злоякісності ПМ ($r_s=0,84$, $p<0,001$).

Експресію p53 у менингіомах відзначено в 96% випадків (25 із 26), але в 2 (8%) випадках вона не перевищувала 1%. Максимальне значення його експресії (38%) зафіксовано в рецидивній ПМ. У цілому середній рівень експресії p53 у ПМ становив 5,0 (2,0;8,0) % (**Рис. 2Б**).

Виявлено статистично значущу кореляцію експресії p53 зі ступенем злоякісності ПМ ($r_s=0,50$, $p=0,010$) та проліферативною активністю пухлини ($r_s=0,58$, $p=0,002$). При Grade I показник експресії p53 становив від 0 до 16%, при Grade II – від 5 до 38 ($p=0,050$ за критерієм Данна), при Grade III – від 2 до 18 ($p=0,124$ і $p=1,0$ порівняно з Grade I та Grade II відповідно) (**Табл. 2**). За даними порівняльного і кореляційного аналізу не виявлено статистично значущий взаємозв'язок між гіперекспресією білка p53 і рецидивуванням ПМ ($r_s=0,23$, $p=0,254$).

Виразну експресію CyD1 (>50%) виявлено у 7 (27%) ПМ, помірну (25–50%) – у 4 (15%) (**Рис. 2В**), слабку (<25%) – у 10 (39%). Експресію не зафіксовано у 5 (19%) випадках, переважно у підгрупі без рецидивів (31 та 8%, $p=0,135$ за критерієм χ^2). Не встановлено статистично значущий взаємозв'язок між рецидивуванням ПМ і наявністю експресії CyD1

($r_s=0,29$, $p=0,147$) або її виразністю ($r_s=-0,08$, $p=0,696$). Експресія цього маркера клітинного циклу прямо пропорційно корелювала з експресією Ki67 ($r_s=0,52$, $p=0,007$), ступенем злоякісності пухлини ($r_s=0,40$, $p=0,041$), експресією Her2 ($r_s=0,41$, $p=0,038$). За відсутності експресії CyD1 на клітинах ПМ індекс проліферації не перевищував 2% і в середньому становив 0,5 (0,5;2,0) %, тоді як проліферативна активність пухлинних клітин з експресією CyD1 – від 0 до 17% (5,0 (3,0;8,0) %, $p=0,010$ за U-критерієм) (**Рис. 3А**).

Оцінка експресії CyD1 залежно від ступеня злоякісності ПМ продемонструвала відсутність експресії лише у клітинах пухлин Grade I. Клітини, що експресують CyD1, виявлено в усіх пухлинах Grade II-III і 67% пухлин Grade I ($p=0,033$ за критерієм χ^2) (**Рис. 3Б**).

Дослідження експресії Her2 на клітинах ПМ показало її відсутність у 15 (58%) пухлинах (у 9 (69%) первинних та 6 (46%) рецидивних, $p=0,234$). У решти рецидивних пухлин (7 (54 %) експресія Her2 була слабкою. Гіперекспресію Her2 (виразне забарвлення всієї мембрани >30% клітин) зафіксовано лише в одному випадку безрецидивної пухлини, ще в одному випадку реакція з цим маркером була помірною (у більш ніж 10% клітин). Отже, кореляційний взаємозв'язок між виразністю експресії Her2 на клітинах ПМ та їхнім рецидивуванням був статистично незначущим ($r_s=0,23$, $p=0,251$).

Таблиця 1. Показники експресії маркера Ki67 при первинних і рецидивних парасагітальних менингіомах

Показник	Кількість спостережень	Me (25%;75%)	p*	Коефіцієнт кореляції
Група ПМ	26	4,3 (2,0;6,0)	–	–
Основна підгрупа	13	6,0 (4,0;9,0)	0,029	0,44 (p=0,025)
Контрольна підгрупа	13	2,0 (0,5;4,5)		
Ступінь злоякості:				
Grade I	15	2,0 (0,5;4,0)	p _{G1-G2} =0,015 p _{G1-G3} <0,001 p _{G2-G3} =1,0	0,84 (p<0,001)
Grade II	4	7,0 (6,0;8,5)		
Grade III	7	9,0 (6,0;16,0)		

* – Різницю між основною і контрольною підгрупами оцінено за критерієм Манна–Уїтні, між підгрупами за ступенем злоякості – за критерієм Данна.

Таблиця 2. Показники експресії маркера p53 при первинних і рецидивних парасагітальних менингіомах

Показник	Кількість спостережень	Me (25%;75%)	p*	Коефіцієнт кореляції
Група ПМ	26	5,0 (2,0;8,0)	–	–
Основна підгрупа	13	5,0 (2,0;9,0)	0,246	0,23 (p=0,254)
Контрольна підгрупа	13	4,0 (1,0;5,0)		
Ступінь злоякості:				
Grade I	15	2,0 (1,0;5,0)	p _{G1-G2} =0,050 p _{G1-G3} =0,124 p _{G2-G3} =1,0	0,50 (p=0,010)
Grade II	4	12,5 (5,0;29,0)		
Grade III	7	7,0 (3,0;9,0)		

* – Різницю між основною і контрольною підгрупами оцінено за критерієм Манна–Уїтні, між підгрупами за ступенем злоякості – за критерієм Данна.

Аналіз експресії маркера Her2 залежно від клініко-морфологічних характеристик ПМ та інших біомолекулярних маркерів клітинного росту виявив наявність прямого пропорційного статистично значущого зв'язку з Ki67 ($r_s=0,59$, $p=0,001$), ступенем злоякості пухлини ($r_s=0,49$, $p=0,010$) та наявністю клітин, що експресують CyD1 ($r_s=0,42$, $p=0,034$). Пухлинні клітини, що експресують Her2, мали вищий індекс проліферативності – 6,0 (5,0;9,0) і 2,0 (0,5;4,5) % за відсутності реакції Her2 із клітинами ПМ ($p=0,003$ за U-критерієм) (**Рис. 4А**).

Оцінка експресії Her2 залежно від ступеня злоякості ПМ продемонструвала відсутність реакції (немає забарвлення або у менш ніж 10% клітин) зазначеного маркера на клітинах пухлин Grade I у

80% випадках, тоді як клітини, що експресують Her2, виявлено у 75 і 71% пухлин Grade II-III (**Рис. 2Г**) і лише в 20% пухлин Grade I ($p=0,027$ за критерієм χ^2) (**Рис. 4Б**).

У 11(42%) випадків зафіксовано експресію Her2 та CyD1, у 5 (19%) – відсутність їхньої експресії, у 10 (39%) – збільшення кількості клітин, що експресують CyD1, на тлі незначної (немає забарвлення або у менш ніж 10% клітин) експресії Her2.

Згідно з даними літератури, експресію p53 у менингіомах спостерігають у 10–88% випадків. У деяких дослідженнях виявлено прямо пропорційну залежність між наявністю експресії p53 та ступенем злоякості менингіом [29], тоді як інші автори не зафіксували наявність будь-якого зв'язку [30].

Результати вивчення впливу гіперекспресії Her2 на агресивність менінгіом, частоту рецидивів і ступінь злякисності пухлин за класифікацією ВООЗ суперечливі. Його експресія становить від 2 до 100%. Повідомляють, що Her2 частіше визначається в доброякісних менінгіомах, а саме менінготеліальних та секреторних [17–19]. За даними деяких ранніх досліджень, існує обернено пропорційний зв'язок між підвищеною експресією Her2 та ступенем злякисності пухлини, але інші джерела наявність такого зв'язку спростовують [31]. Недавні дослідження виявили, що Her2 не корелює зі ступенем злякисності менінгіом, що підтверджено нами на прикладі ПМ [18].

Установлено, що в деяких випадках гіперекспресія CyD1 може бути індукована Her2 [25], але досліджень, які б підтвердили наявність цього зв'язку у менінгіомах, немає. Експресія CyD1 в інтракраніальних менінгіомах прямо пропорційно корелює із проліферативним індексом Ki67 та ступенем злякисності пухлини [26]. Деякі автори наявність зв'язку між ступенем злякисності менінгіом та експресії CyD1 вважають сумнівною. Однак у низці робіт продемонстровано, що кількісне збільшення його експресії свідчить про високу ймовірність рецидиву, тоді як індуковане зниження його синтезу сприяє клінічній ремісії [26].

Деякі автори виявили залежність між наявністю рецепторів прогестерону та рецидивуванням менінгіом. У більшості випадків (66,7%) менінгіоми мали рецептори прогестерону. Серед типових менінгіом (Grade I) вміст рецепторів прогестерону становив 78%, серед атипичних (Grade II) – 62,4%, серед анапластичних (Grade III) – 29,5%. Установлено, що за відсутності рецепторів прогестерону рівень Ki67 був значно вищим, ніж у менінгіом, які мали такі рецептори [24].

Ми не вивчали експресію рецепторів прогестерону, але за результатами порівняльного і кореляційного аналізу первинних і рецидивних ПМ не виявлено статистично значущий зв'язок між рецидивуванням пухлини та більшістю досліджених імуногістохімічних маркерів клітинного циклу (p53, Her2, CyD1), що, можливо, пояснюється невеликою кількістю спостережень, але підтверджує результати більшості попередніх досліджень. Винятком є показник проліферативної активності пухлини. За

даними багатьох досліджень, Ki67 є предиктором гіршого прогнозу для менінгіом. Його експресія >3% свідчить про більшу схильність менінгіом до рецидивування [22, 23]. Метааналіз 53 статей (6 498 пацієнтів із менінгіомами) довів наявність кореляції між Ki67 та ступенем злякисності. Середній показник Ki67 для менінгіоми Grade I відповідав 3% (1–16%), для Grade II – 8% (2–20%), для Grade III – 17% (7–32%), для первинних менінгіом – >2%, для рецидивних – >4%.

У нашому дослідженні Ki67 помірно асоціювався як із гіршим прогнозом ($r_s = 0,44$, $p = 0,025$), так і з іншими досліджуваними маркерами ($r_s = 0,52$, $r_s = 0,59$, $p < 0,01$). Усі імуногістохімічні маркери статистично значущо корелювали зі ступенем злякисності ПМ: для Ki67 – $r_s = 0,84$ ($p < 0,001$), для p53 – $r_s = 0,50$ ($p = 0,010$), для CyD1 – $r_s = 0,40$ ($p = 0,041$), для Her2 – $r_s = 0,49$ ($p = 0,010$). Це дає підставу розглядати показники проліферативної активності та ступеня злякисності пухлини як предиктори рецидивування ПМ після первинного хірургічного лікування. Їхній прогностичний потенціал оцінено за допомогою ROC-аналізу. Установлено, що при експресії Ki67 >4,5% ризик рецидиву/продовженого росту ПМ зростає у 7,5 разу (ВШ – 7,5, 95% ДІ – 1,3–43,0, AUC – 0,751 (95% ДІ – 0,544–0,898), $p = 0,011$). Цей критерій має добрі характеристики чутливості (69,2%) і специфічності (76,9%) (Рис. 5А).

Ступінь злякисності первинної ПМ (Grade II–III) збільшує ризик несприятливого прогнозу в 5,3 разу (95% ДІ – 1,0–29,4), AUC – 0,722 (95% ДІ – 0,513–0,878), $p = 0,016$, чутливість – 61,5%, специфічність – 76,9%) (Рис. 5Б).

Отже, статистично значущими предикторами рецидивування ПМ після первинного хірургічного втручання (упродовж 20 років спостереження) можна вважати підвищення індексу проліферації Ki67 >4,5% та II–III ступінь злякисності пухлини. Роль маркерів p53, Her2 і CyD1 у прогнозуванні рецидивів ПМ є предметом подальших досліджень. Виявлена нами статистично значуща кореляція експресії маркерів p53, Her2 і CyD1 з проліферативним індексом Ki67 та ступенем злякисності пухлини, а також статистично значуща кореляція цих маркерів між собою, потребує подальшого вивчення із залученням більшої кількості клінічних спостережень.

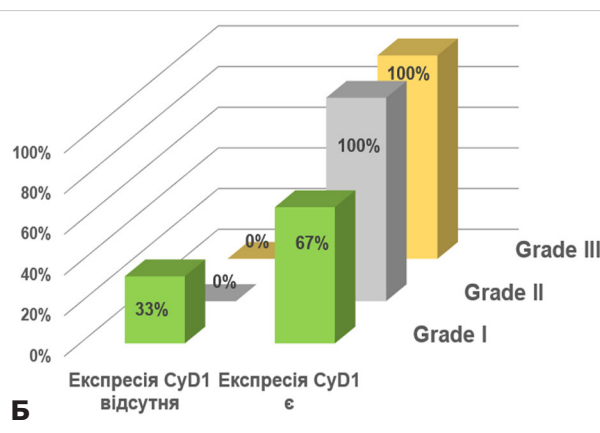
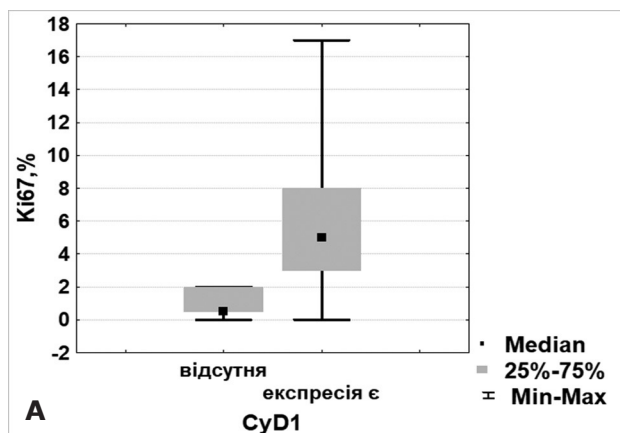


Рис. 3. Експресія CyD1: А – залежно від експресії Ki67 у менінгіомах; Б – у ПМ із різним ступенем злякисності

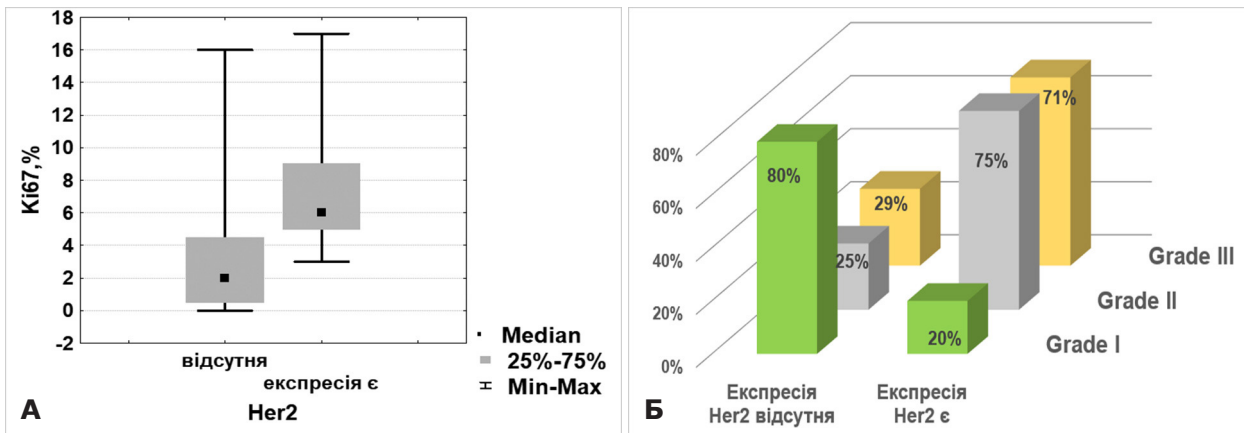


Рис. 4. Експресія Her2: А – залежно від експресії Ki67 у менінгіомах; Б – у ПМ з різним ступенем злоякості

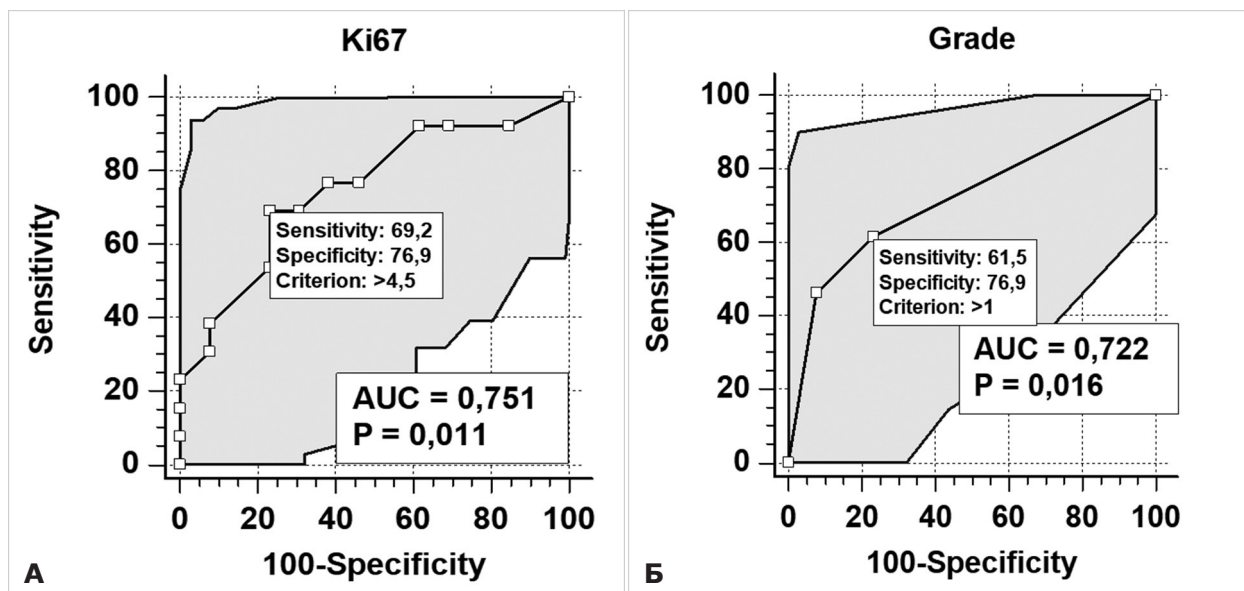


Рис. 5. ROC-криві показників експресії Ki67 (А) та ступеня злоякості ПМ (Б) у визначенні ризику рецидивування ПМ упродовж 20 років спостереження

Висновки:

1. Дослідження матеріалу пухлини (ПМ) обов'язково має передбачати не лише патогістологічне дослідження, а й імуногістохімічне незалежно від ступеня злоякості менінгіоми.
2. Імуногістохімічне дослідження матеріалу пухлини має передбачати аналіз маркера Ki67 як значущого предиктора рецидивування ПМ.
3. У разі виявлення Ki67 >4,5% та/або II-III ступеня злоякості ПМ пацієнт потребує підвищеної уваги під час післяопераційного спостереження, оскільки ризик рецидиву зростає у 7,5 і 5,3 разу відповідно.
4. Адекватний аналіз отриманих результатів допоможе нейрохірургу спланувати оптимальну тактику післяопераційного спостереження, що сприятиме поліпшенню результатів лікування пацієнтів із ПМ.

Розкриття інформації

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Етичні норми

Усі процедури, виконані пацієнтам під час дослідження, відповідають етичним стандартам інституційного та національного комітетів з етики і Гельсінській декларації 1964 року та її пізнішим поправкам або аналогічним етичним стандартам.

Інформована згода.

Від усіх хворих отримана усвідомлена та добровільна письмова згода на участь у дослідженні.

Фінансування.

Дослідження не мало спонсорської підтримки.

Список літератури

- Ostrom QT, Cioffi G, Gittleman H, Patil N, Waite K, Kruchko C, Barnholtz-Sloan JS. CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2012-2016. *Neuro Oncol*. 2019 Nov 1;21(Suppl 5):v1-v100. doi: 10.1093/neuonc/noz150
- Huntoon K, Toland AMS, Dahiya S. Meningioma: A Review of Clinicopathological and Molecular Aspects. *Front Oncol*. 2020 Oct 23;10:579599. doi: 10.3389/fonc.2020.579599
- Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, Ohgaki H, Wiestler OD, Kleihues P, Ellison DW. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*. 2016 Jun;131(6):803-20. doi: 10.1007/s00401-016-1545-1
- Goldbrunner R, Minniti G, Preusser M, Jenkinson MD, Sallabanda K, Houdart E, von Deimling A, Stavrinou P, Lefranc F, Lund-Johansen M, Moyal EC, Brandsma D, Henriksson R, Soffietti R, Weller M. EANO guidelines for the diagnosis and treatment of meningiomas. *Lancet Oncol*. 2016 Sep;17(9):e383-91. doi: 10.1016/S1470-2045(16)30321-7
- Balik V, Kourilova P, Sulla I, Vrbkova J, Srovnal J, Hajdich M, Takizawa K. Recurrence of surgically treated parasagittal meningiomas: a meta-analysis of risk factors. *Acta Neurochir (Wien)*. 2020 Sep;162(9):2165-2176. doi: 10.1007/s00701-020-04336-3
- Lee YS, Lee YS. Molecular characteristics of meningiomas. *J Pathol Transl Med*. 2020 Jan;54(1):45-63. doi: 10.4132/jptm.2019.11.05
- Marciscano AE, Stemmer-Rachamimov AO, Niemierko A, Larvie M, Curry WT, Barker FG 2nd, Martuza RL, McGuone D, Oh KS, Loeffler JS, Shih HA. Benign meningiomas (WHO Grade I) with atypical histological features: correlation of histopathological features with clinical outcomes. *J Neurosurg*. 2016 Jan;124(1):106-14. doi: 10.3171/2015.1.JNS142228
- von Spreckelsen N, Kessler C, Brokinkel B, Goldbrunner R, Perry A, Mawrin C. Molecular neuropathology of brain-invasive meningiomas. *Brain Pathol*. 2022 Mar;32(2):e13048. doi: 10.1111/bpa.13048
- Behling F, Hempel JM, Schittenhelm J. Brain Invasion in Meningioma-A Prognostic Potential Worth Exploring. *Cancers (Basel)*. 2021 Jun 29;13(13):3259. doi: 10.3390/cancers13133259
- Amano T, Nakamizo A, Murata H, Miyamatsu Y, Mugita F, Yamashita K, Noguchi T, Nagata S. Preoperative Prediction of Intracranial Meningioma Grade Using Conventional CT and MRI. *Cureus*. 2022 Jan 25;14(1):e21610. doi: 10.7759/cureus.21610
- Buerki RA, Horbinski CM, Kruser T, Horowitz PM, James CD, Lukas RV. An overview of meningiomas. *Future Oncol*. 2018 Sep;14(21):2161-2177. doi: 10.2217/fon-2018-0006
- Behzadmehr R, Behzadmehr R. Are the clinical manifestations of CT scan and location associated with World Health Organization histopathological grades of meningioma?: A retrospective study. *Ann Med Surg (Lond)*. 2021 Apr 30;66:102365. doi: 10.1016/j.amsu.2021.102365
- Cucu AI, Turliuc MD, Costea CF, Dascălu CG, Dumitrescu GF, Sava A, Turliuc S, Scripcariu DV, Poată I. Tumor recurrence in parasagittal and falxine atypical meningiomas invading the superior sagittal sinus. *Rom J Morphol Embryol*. 2020 Apr-Jun;61(2):385-395. doi: 10.47162/RJME.61.2.08
- Escribano Mesa JA, Alonso Morillejo E, Parrón Carreño T, Huete Allut A, Narro Donate JM, Méndez Román P, Contreras Jiménez A, Pedrero García F, Masegosa González J. Risk of Recurrence in Operated Parasagittal Meningiomas: A Logistic Binary Regression Model. *World Neurosurg*. 2018 Feb;110:e112-e118. doi: 10.1016/j.wneu.2017.10.087
- Perpelytsia V, Sirko A. Prognostic Factors for Parasagittal Meningiomas Recurrence. *Ukrainian Scientific Medical Youth Journal*. 2023 Mar; 1(136):68-83. doi: 10.32345/USMYJ.1(136).2023.68-83
- Трош ПМ, Шамаєв МІ, Оніщенко ПМ, Малишева ТА, Федірко ВО. Особливості топографії та мікрохірургічної анатомії петроклівальних менингіом субсупратенторіальної локалізації. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2004;(1):39-43.
- de Carvalho GTC, da Silva-Martins WC, de Magalhães KCSF, Nunes CB, Soares AN, Tafuri LSA, Simões RT. Recurrence/Regrowth in Grade I Meningioma: How to Predict? *Front Oncol*. 2020 Aug 4;10:1144. doi: 10.3389/fonc.2020.01144
- Arnli MB, Winther TL, Lydersen S, Torp SH. Prognostic value of ErbB2/HER2 in human meningiomas. *PLoS One*. 2018 Oct 18;13(10):e0205846. doi: 10.1371/journal.pone.0205846
- Abtahi S, Hakimrabet S, Malekzadeh M, Deghanian AR, Ghaderi A. Investigating the Levels of Soluble Extracellular Domain of HER2 Protein in the Sera of Meningioma Patients. *Turk Neurosurg*. 2019;29(1):9-13. doi: 10.5137/1019-5149.JTN.21536-17.2
- Wang S, Liu X, Wang W, Tu Y, Wang C, Mei J, Xiong J. The Effects of Silencing the Her2 Gene on Proliferation and Angiogenesis of Meningioma Cells *in vivo* and *in vitro*. *Ann Clin Lab Sci*. 2018 Sep;48(5):580-586.
- Lee SH, Lee EH, Sung KS, Kim DC, Kim YZ, Song YJ. Ki67 Index Is the Most Powerful Factor for Predicting the Recurrence in Atypical Meningioma : Retrospective Analysis of 99 Patients in Two Institutes. *J Korean Neurosurg Soc*. 2022 Jul;65(4):558-571. doi: 10.3340/jkns.2021.0196
- Kügükosmanoğlu İ, Karanis MİE, Ünlü Y, Çöven İ. Evaluation of P57, P53 and Ki67 Expression in Meningiomas. *J Korean Neurosurg Soc*. 2022 Jul;65(4):499-506. doi: 10.3340/jkns.2021.0197
- Liu N, Song SY, Jiang JB, Wang TJ, Yan CX. The prognostic role of Ki-67/MIB-1 in meningioma: A systematic review with meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020 Feb;99(9):e18644. doi: 10.1097/MD.00000000000018644
- Зозуля ЮА, Кваша МС, Шамаєв МІ, Малышева ТА. Патогенетический подход к лечению гормонозависимых менингиом головного мозга. *Ukrainian Neurosurgical Journal*. 2003;(2):33-42.
- Qie S, Diehl JA. Cyclin D1, cancer progression, and opportunities in cancer treatment. *J Mol Med (Berl)*. 2016 Dec;94(12):1313-1326. doi: 10.1007/s00109-016-1475-3
- Cheng G, Zhang L, Lv W, Dong C, Wang Y, Zhang J. Overexpression of cyclin D1 in meningioma is associated with malignancy grade and causes abnormalities in apoptosis, invasion and cell cycle progression. *Med Oncol*. 2015 Jan;32(1):439. doi: 10.1007/s12032-014-0439-0
- Abdelzaher E, El-Gendi SM, Yehya A, Gowil AG. Recurrence of benign meningiomas: predictive value of proliferative index, BCL2, p53, hormonal receptors and HER2 expression. *Br J Neurosurg*. 2011 Dec;25(6):707-13. doi: 10.3109/02688697.2010.522743
- Šimundić AM. Measures of Diagnostic Accuracy: Basic Definitions. *EJIFCC*. 2009 Jan 20;19(4):203-11.
- Pečina-Šlaus N, Kafka A, Vladušić T, Tomas D, Logara M, Skoko J, Hrašćan R. Loss of p53 expression is accompanied by upregulation of beta-catenin in meningiomas: a concomitant reciprocal expression. *Int J Exp Pathol*. 2016 Apr;97(2):159-69. doi: 10.1111/iep.12186
- Trott G, Pereira-Lima JF, Leães CG, Ferreira NP, Barbosa-Coutinho LM, Oliveira MC. Abundant immunohistochemical expression of dopamine D2 receptor and p53 protein in meningiomas: follow-up, relation to gender, age, tumor grade, and recurrence. *Braz J Med Biol Res*. 2015 May;48(5):415-9. doi: 10.1590/1414-431X20144163
- Ongaratti BR, Silva CB, Trott G, Haag T, Leães CG, Ferreira NP, Oliveira MC, Pereira-Lima JF. Expression of merlin, NDRG2, ERBB2, and c-MYC in meningiomas: relationship with tumor grade and recurrence. *Braz J Med Biol Res*. 2016;49(4):e5125. doi: 10.1590/1414-431X20155125