

С. И. Тертышный, В. Е. Вотева

**Экспрессия Pan cytokeratin в менингиомах головного мозга**

Запорожский государственный медицинский университет

**Ключевые слова:** менингиома, гистогенез, цитокератин.

Менингиомы головного мозга – вторая по частоте диагностирования опухоль центральной нервной системы у взрослых, составляет до 30% всех первичных новообразований. С целью определения наличия и оценки уровня экспрессии цитокератина в доброкачественных и злокачественных менингиомах головного мозга в образцах ткани менингиом, удаленных во время нейрохирургических операций у 30 больных, проведено иммуногистохимическое исследование с использованием моноклональных антител Мо а-Hu Cytokeratine (PanCK), Clone AE1/AE3 («ДАКО», Дания). Установлено, что анапластические менингиомы экспрессировали цитокератин в 80% случаев. Среди доброкачественных менингиом положительная экспрессия обнаружена в 40% фибробластических вариантов. Это свидетельствует, что цитокератины необходимо включить в панель иммуногистохимических маркеров, используемых при дифференциальной диагностике различных вариантов менингиом.

**Експресія Pan cytokeratin у менингіомах головного мозку**

С. І. Тертишний, В. Є. Вотева

Менінгіоми головного мозку – друга за частотою діагностування пухлина центральної нервової системи, що становить до 30% усіх первинних новоутворень. З метою визначення наявності та оцінювання рівня експресії цитокератину в доброякісних і злоякісних менінгіомах головного мозку у зразках тканини менінгіом, котрі видалені під час нейрохірургічних операцій у 30 хворих, здійснили імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл Мо а-Hu Cytokeratine (PanCK), Clone AE1/AE3 («ДАКО», Данія). Встановили, що анапластичні менінгіоми експресували цитокератин у 80% випадків. Серед доброякісних менінгіом позитивну експресію виявили в 40% фібробластичних варіантів. Це свідчить, що цитокератини треба включити в панель імуногістохімічних маркерів, які використовують під час диференційної діагностики різних варіантів менінгіом.

**Ключові слова:** менінгіома, гистогенез, цитокератин.**Патологія.** – 2015. – №1 (33). – С. 31–34**Pan cytokeratin expression by meningiomas of the brain**

S. I. Tertishnyy, W. E. Voteva

Meningiomas of the brain are the second most common tumor of the CNS in adults, accounting about 30% of all primary tumors.

Aim. In order to determine the presence and to assess the expression level of cytokeratin (CK) in benign and malignant brain meningiomas tissue samples were obtained during neurosurgical operations from 30 patients.

Methods and results. Tissue samples were studied immunohistochemically by using monoclonal antibodies Mo a-Hu Cytokeratine (PanCK), Clone AE1/AE3 («ДАКО», Denmark). It was established that anaplastic meningiomas expressed CK in 80% of cases. Among benign meningiomas positive expression was found in 40% of fibroblastic subtypes.

**Key words:** Meningioma, Histogenesis, Cytokeratin.**Pathologia.** 2015; №1 (33): 31–34

Менингиомы головного мозга – вторая по частоте диагностирования опухоль центральной нервной системы (ЦНС) у взрослых, составляя до 30% всех первичных новообразований. Согласно последней классификации ВОЗ (2007), в зависимости от гистологического строения и агрессивности поведения менингиомы подразделяют на доброкачественные (grade I), атипические (grade II) и анапластические (grade III) [1]. Большинство этих опухолей представляют собой доброкачественные новообразования, четко отграниченные от окружающих мозговых структур без тенденции к инвазии и метастазированию. Анапластические менингиомы характеризуются высокой вероятностью рецидива, высокой пролиферативной активностью, наличием очагов некроза, увеличенным ядерно-цитоплазматическим отношением, расслаивающей схемой роста. Несмотря на наличие названных диагностических критериев, эти

опухоли бывает крайне трудно дифференцировать от других злокачественных новообразований, таких как меланомы, карциномы и саркомы [2,3].

Считается, что менингиомы происходят из вершечных арахноидальных клеток, которые формируют наружный слой паутинной оболочки. Однако возможность происхождения опухоли из более примитивных клеток-предшественников не исключается. До сих пор точно не установлен гистогенез клеток менингиом. Предполагается, что они обладают как мезенхимальным, так и эпителиальным потенциалом. Схожесть с мезенхимальными клетками подтверждается веретенообразной морфологией и способностью продуцировать коллагеновую строму. В пользу эпителиальной дифференцировки свидетельствует ультраструктурное подтверждение наличия множественных межклеточных контактов типа десмосом и полудесмосом, секреторная функция

и иммуногистохимическая экспрессия эпителиального мембранного антигена (ЭМА) [4]. ЭМА – основной диагностический маркер для менингиом, но его экспрессия может быть слабой в фибробластических, атипических и анапластических менингиомах.

Некоторым анапластическим менингиомам присущи эпителиоидные черты, при этом они ошибочно могут быть приняты за метастатические карциномы. Об эпителиальной дифференцировке также свидетельствует экспрессия цитокератинов (СК) [3], которая до сегодня остается недостаточно изученной. Некоторые из мезенхимальных опухолей также обладают способностью экспрессировать кератин [5]. Считается, что из внутримозговых опухолей СК экспрессируют папилломы хориоидного сплетения, некоторые менингиомы, а глиомы и низкодифференцированные нейроэктодермальные опухоли СК-негативны [3,6]. При этом данные относительно экспрессии цитокератинов в менингиомах головного мозга крайне немногочисленны, что определяет актуальность данного исследования.

### Цель работы

Установить наличие и провести оценку уровня экспрессии цитокератина в доброкачественных и злокачественных менингиомах головного мозга.

### Материалы и методы исследования

Проанализировали 10 случаев анапластических менингиом (grade III) и 20 случаев доброкачественных менингиом (grade I), удаленных при нейрохирургических операциях. Доброкачественные менингиомы включали 10 менинготелиоматозных вариантов, 5 фибробластических и 5 переходных. Градация по степеням злокачественности произведена согласно последней классификации опухолей ЦНС ВОЗ (2007). Срезы окрашивали по стандартной методике гематоксилином и эозином. Среди анапластических менингиом 80% имели супратенториальную локализацию, 20% – супра-субтенториальную; 90% доброкачественных менингиом имели супратенториальную локализацию на конвексимальной поверхности больших полушарий, 10% – субтенториальную. Возраст больных составлял от 55 до 70 лет.

Для иммуногистохимического (ИГХ) исследования на прецизионном ротационном микротоме HM 3600 («MICROM Laborgerate GmbH», ФРГ) изготавливали серийные срезы толщиной 4 мкм, которые помещали на адгезивные предметные стекла «SUPER FROST PLUS» («Menzel Glaser», ФРГ). Согласно стандартизированным протоколам в парафиновых срезах после температурной демаскировки антигенов путем нагревания на водяной бане в Трис-ЭДТА буфере (pH=9,0) и угнетения активности эндогенной пероксидазы 3% раствором перекиси водорода выполнили ИГХ-исследование с использованием моноклональных антител Мо а-Hu Cytokeratine (PanCK), Clone AE1/AE3 («ДАКО», Дания) и систем визуализации EnVision+ («ДАКО», Дания) с диаминобензидином. Уровень экспрессии оценивали по количеству методом по шкале от 0 до 4 баллов: отсутствие экспрессии – 0 баллов, слабая экспрессия в

5–10% клеток – 1 балл, умеренно выраженная экспрессия в 11–30% клеток – 2 балла, выраженная экспрессия в 31–60% клеток – 3 балла, выраженная экспрессия в 61–100% клеток – 4 балла.

### Результаты и их обсуждение

Среди доброкачественных менингиом выделяют 9 гистологических вариантов, которые характеризуются широкой вариабельностью строения. В нашем исследовании экспрессия СК в менинготелиоматозных вариантах не установлена, что совпадает с данными других авторов [7]. Опубликованы данные, указывающие, что менинготелиоматозные менингиомы экспрессируют СК, при этом фокальная экспрессия СК обнаружена вокруг гиалиновых телец. Она находилась в пропорциональной зависимости от количества гиалиновых телец, которые не окрашивались [8]. Так как количество исследованных случаев было крайне ограниченным, нельзя говорить о достоверности полученных результатов.

При исследовании опухоли и прилежащих участков мозговой паренхимы экспрессия СК отмечена только в мягких мозговых оболочках, для которых была характерна слабая диффузная иммунореактивность, уровень экспрессии составил  $1,05 \pm 0,05$  балла.

Известно, что переходные менингиомы характеризуются смешанными чертами строения, которые характерны как для менинготелиоматозных вариантов, так и для фибробластических. В переходных вариантах в 20% случаев обнаружена фокальная цитоплазматическая экспрессия СК. Уровень экспрессии составил  $1,50 \pm 0,08$  балла. Сходство с менинготелиоматозными менингиомами состояло в наличии эпителиодных клеток округлой или полигональной формы, расположенных в виде альвеолярных структур или образующих завихрения, при этом иммунореактивность установлена в клетках; образующих своеобразные завихрения, а также возле псаммомных телец.

В специализированной литературе не обнаружили данных об экспрессии СК в фибробластических вариантах менингиом grade I. Однако в 40% исследованных образцов мы установили цитоплазматическую экспрессию СК: для 20% фибробластических менингиом характерна слабая диффузная экспрессия, остальные 20% опухолей характеризовались диффузной умеренно выраженной иммунореактивностью, гранулы коричневатого цвета располагались в виде тяжей в цитоплазме клеток веретеновидной формы. В целом, уровень экспрессии составил  $2,10 \pm 0,12$  балла (рис. 1А, цв. вкладка 1). Среди всех исследованных фибробластических вариантов 60% случаев были иммунонегативны.

Считается, что экспрессия маркеров эпителиальной дифференцировки наиболее выражена в секреторных вариантах, для которых характерны выраженные признаки эпителиальной дифференцировки, такие как железистая метаплазия с микроворсинками, ресничками, внутрипросветная секреция и множественные межклеточные контакты [9]. Данные об экспрессии эпителиальных маркеров в других вариантах доброкачественных ме-

нингиом крайне немногочисленны. В клеточных линиях, полученных из культуры клеток доброкачественных менингиом с помощью метода иммунофлуоресценции, установлена экспрессия как мезенхимальных антигенов (виментина), так и эпителиальных (СК).

Анапластические менингиомы обладают выраженными инвазивными свойствами и способностью к раннему рецидивированию, что значительно ухудшает качество жизни больных. При этом агрессивное поведение этих опухолей зависит от комплексного взаимодействия различных механизмов, одним из которых является процесс эпителиально-мезенхимальной трансформации (ЭМТ). ЭМТ играет важную роль в процессах эмбриогенеза, тканевой дифференцировки и заживления ран, но также имеет место при различных патологических процессах, таких как фиброз или опухолевая прогрессия. В эпителиальных опухолях ЭМТ характеризуется разрушением межклеточных контактов, в частности десмосом и полудесмосом, с потерей экспрессии таких белков, как E-cadherin, нарушением апикально-базальной полярности, приобретением мезенхимальных свойств и полной реорганизацией промежуточных филаментов, в частности снижением экспрессии СК [10], что в комплексе способствует приобретению опухолевыми клетками подвижности и способности к метастазированию. Однако существует и обратный процесс – мезенхимально-эпителиальная трансформация (МЭТ), когда в метастазах опухоли происходит переключение от мезенхимального к эпителиальному фенотипу с восстановлением экспрессии эпителиальных маркеров, характерных для первичной опухоли.

Полученные результаты свидетельствуют, что анапластические менингиомы экспрессировали СК в 80% случаев, уровень иммунореактивности составил

3,90±0,35 балла. Для 70% из них характерна выраженная диффузная экспрессия в виде темно-коричневых гранул в цитоплазме 80–90% опухолевых клеток (рис. 1Б, цв. вкладка 1).

Диффузная умеренно выраженная иммунореактивность отмечена в 10% злокачественных менингиом, при этом в цитоплазме 70–80% клеток наблюдали экспрессию в виде гранул светло-коричневого цвета. Все положительно окрашенные образцы менингиом получены от больных с рецидивом опухоли.

Полученные данные согласуются с результатами исследований других авторов, но в специализированной литературе отсутствует точная информация, объясняющая положительную экспрессию СК в злокачественных менингиомах.

### Выводы

1. Иммуноэкспрессия пан-цитокератина регистрируется в 20% переходных (фокальная цитоплазматическая экспрессия), 40% фибробластических (диффузная цитоплазматическая экспрессия) и 80% анапластических (диффузная цитоплазматическая экспрессия) менингиомах, что может свидетельствовать о переходе от мезенхимального к эпителиальному фенотипу.

2. Цитокератины необходимо включить в панель иммуногистохимических маркеров, используемых при дифференциальной диагностике различных вариантов доброкачественных менингиом, а также при дифференциальной диагностике анапластических и доброкачественных менингиом.

**Перспективы дальнейших исследований** в этом направлении предполагают изучение различных иммуногистохимических характеристик менингиом для более точного определения их гистогенеза и биологических свойств, что повысит качество дифференциальной диагностики и лечения данной патологии.

### Список литературы

- World Health Organization Classification of Tumours of the Central Nervous System / D.N. Louis, H. Ohgaki, O.D. Wiestler et al. – Lyon : IARC, 2007. – P. 164–172.
- Molecular Targets and Treatment of Meningioma / Jr.R. Miller, M.L. DeCandio, Y. Dixon-Mah et al. // J. Neurol. Neurosurg. – 2014. – Vol. 1. – №1.
- Pekmezci M. Neuropathology of brain metastases / M. Pekmezci, A. Perry // Surgical Neurology International. – 2013. – Vol. 4. – S245–55.
- Бекяшев А.Х. Патогенез менингиом (обзор литературы) / А.Х. Бекяшев // Опухоли головы и шеи. – 2011. – №4. – С. 26–40.
- Abdelzaher E. Expression of mesothelioma-related markers in meningiomas: an immunohistochemical study / E. Abdelzaher, D.M. Abdallah // Biomed Res Int. – 2014. – 30 Apr.
- Бабиченко И.И. Новые методы иммуногистохимической диагностики опухолевого роста : учебное пособие / И.И. Бабиченко, В.А. Ковязин. – М. : РУДН, 2008. – 109 с.
- Expression of cytokeratin by malignant meningiomas: diagnostic pitfall of cytokeratin to separate malignant meningiomas from metastatic carcinoma / Y. Liu, C.D. Sturgis, M. Bunker et al. // Mod. Pathol. – 2004. – Vol. 17. – №9. – P. 1129–1133.
- Epithelial membrane antigen and cytokeratin expression by meningiomas: an immunohistological study / J.M. Theaker, K.C. Gatter, M.M. Esiri et al. // J. Clin. Pathol. – 1986. – Vol. 39. – №4. – P. 435–439.
- Taraszevska A. Secretory meningiomas: immunohistochemical pattern of lectin and ultrastructure of pseudopsammoma bodies / A. Taraszevska, E. Matyja // Folia Neuropathol. – 2014. – Vol. 52. – №2. – P. 141–150.
- Chung B.M. Networking galore: Intermediate filaments and cell migration / B.M. Chung, J.D. Rotty, P.A. Coulombe // Curr. Opin. Cell. Biol. – 2013. – Vol. 25. – №5. – P. 600–612.

### References

- Louis, D. N., Ohgaki, H., Wiestler, O. D., & Cavenee, W. K. (Eds.). (2007). *World Health Organization Classification of Tumours of the Central Nervous System*. Lyon: IAR.
- Miller, R. Jr., DeCandio, M. L., Dixon-Mah, Y., Giglio, P., Vandergrift, W. A. 3<sup>rd</sup>, Banik, N. L., et al. (2014). Molecular Targets and Treatment of Meningioma. *Journal of Neurology and Neurosurgery*, 1(1).
- Pekmezci, M., & Perry, A. (2013). Neuropathology of brain metastases. *Surgical Neurology International*, 4, S245–55, doi: 10.4103/2152-7806.111302.
- Bekyashev, A. Kh. (2011). [Pathogenesis of meningiomas (a review of literature)]. *Opukholi holovy i shei*, 4, 26–40. [in Russian].
- Abdelzaher, E., & Abdallah, D. M. (2014). Expression of mesothelioma-related markers in meningiomas: an immunohistochemical study. *Biomed Research International*. doi: 10.1155/2014/968794.

6. Babichenko, I. I., & Kovyazin, V. A. (2008). *Novyie metody immunogistokhimicheskoy diagnostiki opukholevogo rosta [New methods of immunohistochemical diagnosis of tumor growth]*. Moscow: RUDN. [in Russian].
7. Liu, Y., Sturgis, C. D., Bunker, M., Saad, R. S., Tung, M., Raab, S. S., & Silverman, J. F. (2004). Expression of cytokeratin by malignant meningiomas: diagnostic pitfall of cytokeratin to separate malignant meningiomas from metastatic carcinoma. *Modern Pathology*, 17(9), 1129–1133. doi:10.1038/modpathol.3800162.
8. Theaker, J. M., Gatter, K. C., Esiri, M. M., & Fleming, K. A. (1986). Epithelial membrane antigen and cytokeratin expression by meningiomas: an immunohistological study. *Journal of clinical pathology*, 39(4), 435–439. doi: 10.1136/jcp.39.4.435.
9. Taraszewska, A., & Matyja, E. (2014). Secretory meningiomas: immunohistochemical pattern of lectin and ultrastructure of pseudopsammoma bodies. *Folia Neuropathologica*, 52(2), 141–150.
10. Chung, B. M., Rotty, J. D., & Coulombe, P. A. (2013). Networking galore: Intermediate filaments and cell migration. *Current opinion in cell biology*, 25(5), 600–612. doi: 10.1016/j.ceb.2013.06.008.

**Сведения об авторах:**

Тертышный С.И., д. мед. н., профессор каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет.

Вотева В.Е., заочный аспирант каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: vanda.voteva@yandex.ru.

**Відомості про авторів:**

Тертишний С.І., д. мед. н., професор каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет.

Вотева В.Є., заочний аспірант каф. патологічної анатомії та судової медицини, Запорізький державний медичний університет, E-mail: vanda.voteva@yandex.ru.

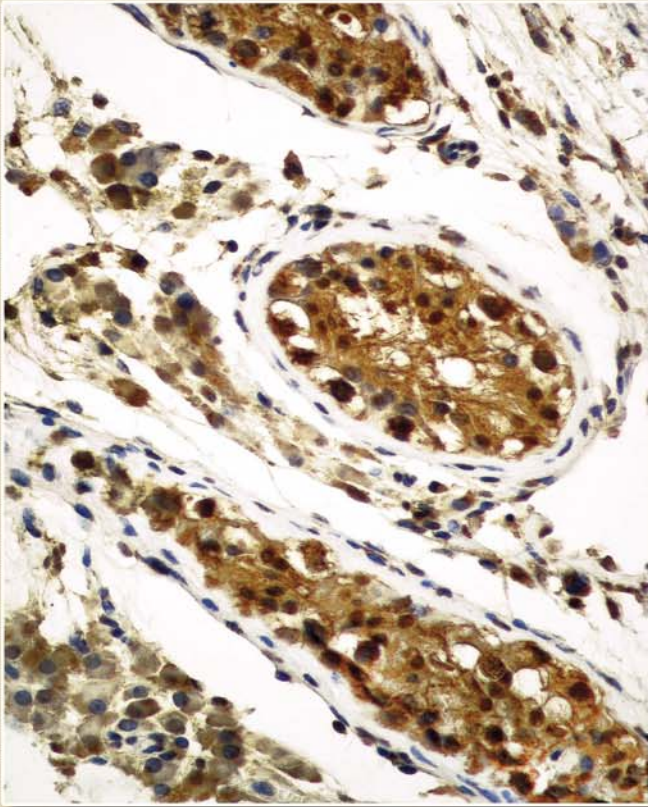
**Information about authors:**

Tertishnyy S.I., MD, PhD, Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University.

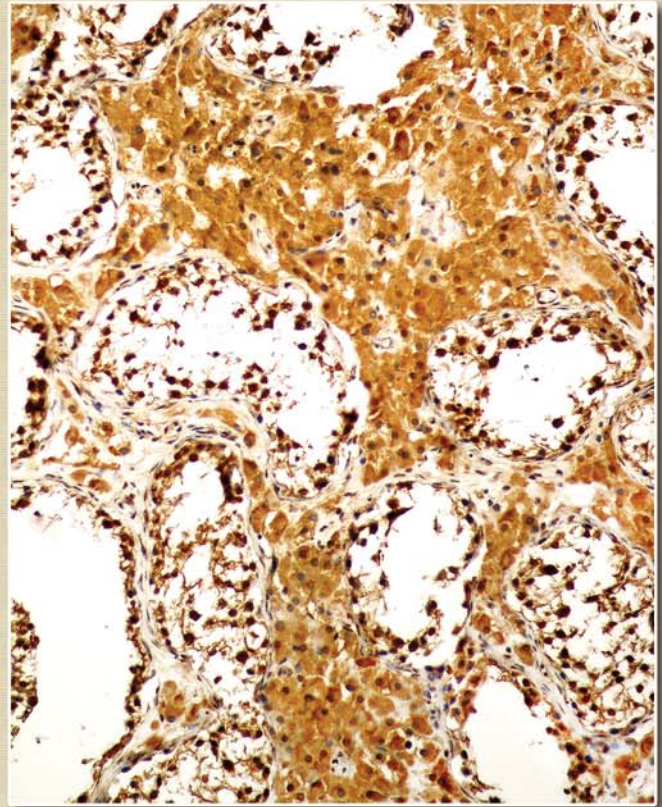
Voteva W.E., Postgraduate at the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, vanda.voteva@yandex.ru.

Надійшла в редакцію 09.04.2015 р.



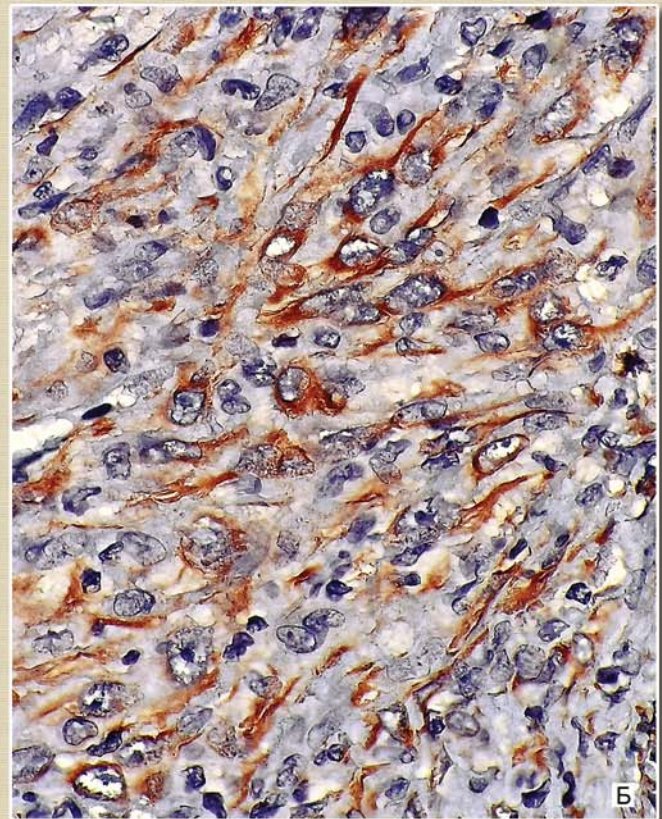
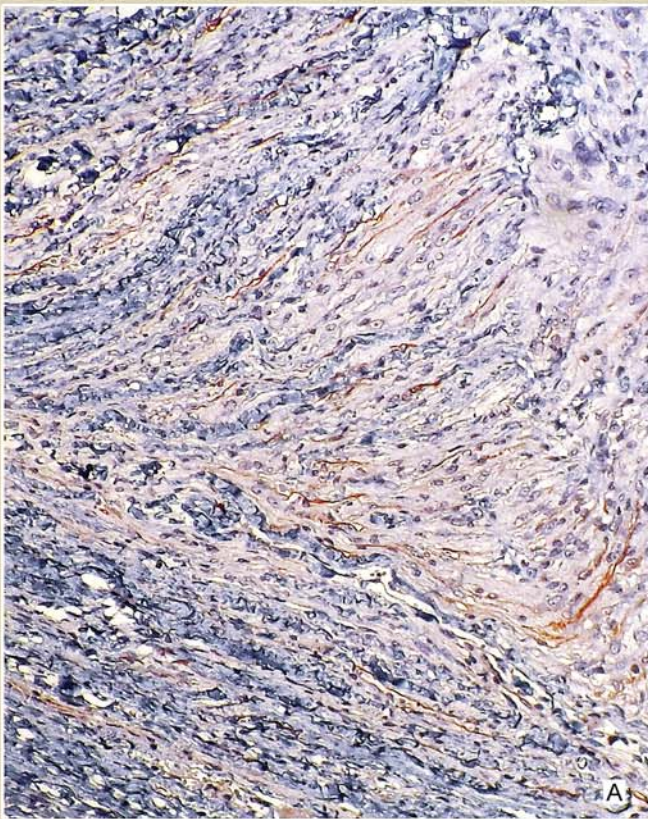


*Рис. 1.* Перитуморальна тканина яєчка. Виразна ядерна та помірною цитоплазматична експресія протеїну ubiquitin у клітинах Сертолі та сперматогоніях. Атипові статеві клітини з помірною ядерною та слабкою цитоплазматичною експресією. Імунопероксидазний АВС-метод. Х240.



*Рис. 2.* Перитуморальна тканина яєчка. Виразна гіперплазія та гіпертрофія клітин Лейдига, в яких ядерна експресія протеїну ubiquitin відсутня або слабка; цитоплазматична експресія протеїну ubiquitin помірна та виразна. Імунопероксидазний АВС-метод. Х170.

**(Рис. 1,2 до статті С. В. Базалицької, А. М. Романенко «Гістопатологічні зміни та імуногістохімічна експресія протеїну ubiquitin у перитуморальній тканині при герміногенних пухлинах яєчка», с. 26–30)**



*Рис. 1.* А – диффузною цитоплазматичною експресією СК в фібробластическій менингіомі. ІГХ с PanCK Ув.×200. Б – диффузною цитоплазматичною експресією СК в анапластическій менингіомі. ІГХ с PanCK Ув.×1000.

**(Рис. 1 к статье С. И. Тертышного, В. Е. Воевой «Экспрессия Pan cytokeratin в менингиомах головного мозга», с. 31–34)**