

Dariusz J. Jaskólski

Received: 18.05.2012

Accepted: 04.06.2012

Published: 29.06.2012

Badania kliniczno-molekularne w oponiakach

Clinical and molecular studies in meningiomas

Klinika Neurochirurgii i Onkologii Centralnego Układu Nerwowego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi.

Kierownik Kliniki: prof. dr hab. n. med. Marek Zawirski

Adres do korespondencji: Klinika Neurochirurgii i Onkologii Centralnego Układu Nerwowego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, ul. Kopcińskiego 22, 90-153 Łódź, tel.: 42 677 67 70, e-mail: djask@o2.pl

Część doświadczałną pracy wykonano w Zakładzie Patologii Molekularnej i Neuropatologii Katedry Onkologii UM w Łodzi.

Kierownik Zakładu: prof. dr hab. n. med. Paweł P. Liberski

Praca finansowana ze środków własnych

Streszczenie

Cel: Celem pracy była ocena częstości występowania delecji na chromosomach 1., 9., 10., 14., 18. i 22. w 75 łagodnych i 15 atypowych oponiakach oraz skorelowania ich z niektórymi danymi klinicznymi. **Materiał i metoda:** Sparowane próbki prawidłowego, pochodzącego z leukocytów krwi obwodowej DNA oraz DNA oponiaka zostały zbadane pod kątem utraty heterozygotyczności (LOH) za pomocą 24 markerów mikrosatelitarnych i techniki reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR). Materiał pochodził od chorych operowanych. **Wyniki:** Analiza statystyczna wykazała, że delecje na chromosomach 14. i 18. były w istotny sposób związane ze stopniem WHO oponiaków (odpowiednio $p=0,048$ i $p=0,03$). Co więcej, LOH na chromosomie 14. był istotnie statystycznie związany z rozmiarem oponiaka ($p=0,048$), jako że ryzyko wzrostu nowotworu o średnicy powyżej 4 cm było 6-krotnie większe niż ryzyko rozwoju mniejszego guza. Najczęściej występującą nieprawidłowością genetyczną w oponiakach jest LOH na chromosomie 22., co zostało potwierdzone w przedstawionym materiale, w którym zmianę tę zaobserwowano w 66% przypadków. Występował silny związek pomiędzy zmianami na chromosomie 22. a podtypem histologicznym nowotworu. Utrata heterozygotyczności na chromosomie 22. była częstsza w oponiakach włóknistych niż w meningotelialnych ($p=0,001$). Ponadto obserwowano związek pomiędzy obecnością LOH na 22. chromosomie a umiejscowieniem oponiaka: częstość LOH w guzach podstawy czaszki była znacząco mniejsza w porównaniu z oponiakami przystrzałkowymi ($p=0,0004$). **Wnioski:** Powyższe wyniki wskazują, że utrata heterozygotyczności na chromosomach 9., 10., 14., 18. i 22. może mieć związek z patogenezą i progresją oponiaka.

Słowa kluczowe: oponiak, utrata heterozygotyczności (LOH), utrzymanie heterozygotyczności (ROH), patogenezę oponiaka, zaburzenia molekularne w oponiakach

Summary

Aim: The aim of our study was to evaluate the frequency of deletions on chromosomes 1, 9, 10, 14, 18 and 22 in 75 benign and 15 atypical meningiomas and correlate them with clinical findings. **Methods:** Paired normal and tumour DNA samples obtained from the patients operated on, were analyzed for loss of heterozygosity (LOH), using 24 microsatellite markers and PCR techniques. **Results:** Statistical analysis showed that deletions on chromosomes 14 and 18 were significantly associated with WHO grade of the meningiomas ($p=0.048$ and $p=0.03$, respectively). In addition, LOH on chromosome 14 was significantly associated with tumour size ($p=0.048$), as the risk of developing a tumour larger than 4 cm in diameter was 6-times greater than the risk of developing tumour with diameter below 4 cm. The most frequent genetic abnormality in

meningiomas is 22 LOH, which was confirmed in the present study in which high frequency of such abnormality was observed (66%). There was a clear associations between chromosome 22 status and histological subtype. LOH on chromosome 22 was more frequent in fibrous meningiomas than in the meningothelial variant ($p=0.001$). Besides that, there was a relationship between 22 LOH status and tumour location: the frequency of LOH in skull base meningiomas was significantly lower compared to parasagittal meningiomas ($p=0.0004$). **Conclusions:** These results indicated that allelic loss on chromosomes 9, 10, 14, 18 and 22 may be associated with meningioma pathogenesis and progression.

Key words: meningioma, loss of heterozygosity (LOH), retention of heterozygosity (ROH), meningioma pathogenesis, molecular alternations in meningiomas

Podziękowania

Panu Profesorowi dr. hab. n. med. Pawłowi P. Liberskiemu z całego serca dziękuję za nieocenioną przyjazną pomoc, która umożliwiła powstanie tej pracy i nadała sens moim działaniom.

Mojemu nauczycielowi neurochirurgii – Panu Profesorowi dr. hab. n. med. Markowi Zawirskiemu serdecznie dziękuję za wszystkie razem spędzone lata, których zwieńczeniem jest ta dysertacja.

Wyrażam głęboką wdzięczność Pani Doktor Sylwii M. Grešner za Jej niespotykaną życzliwość, niecodzienną cierpliwość, zrozumienie i tak potrzebną mi pomoc, której nie skąpiła.

Bardzo dziękuję Panu Doktorowi Janowi Fortuniakowi za istotne wsparcie w dążeniu do celu.

WYKAZ ZASTOSOWANYCH SKRÓTÓW Z OBJAŚNIENIAMI

4EBP1 – ang. *eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1*, białko wiążące eukariotyczny czynnik inicjacji translacji 4E

Akt – kinaza proteinowa Akt (synonim: PKB, *protein kinase B*)

ALPL – ang. *alkaline phosphatase gene, liver/bone/kidney* (synonimy: AP-TNAP, APTNAP, *alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme*, HOPS)

APC – ang. *adenomatous polyposis coli gene* (synonimy: BTPS2, DP2, DP2.5, DP3)

APM-1 – ang. *affected by papillomavirus DNA integration in ME180 cells protein 1 gene* (synonimy: ZBTB7C, *zinc finger and BTB domain containing 7C*, ZBTB36)

BAM22 – ang. *beta-adaptin gene*

bcl-2 – ang. *B-cell lymphoma 2*

BCR – ang. *breakpoint cluster region* (synonimy: ALL, BCR1, CML, D22S11)

BMP – ang. *bone morphogenetic proteins*, grupa 20 czynników wzrostowych

BMPR – ang. *bone morphogenetic protein receptors*, receptory BMP (wyróżniamy typy 1A, 1B oraz 2; należą do receptorowych kinaz serynowo-treoninowych)

CD44 – receptor błonowy wiążący między innymi kwas hialuronowy, kolageny, osteopontynę i metaloproteinazy

CDC-42 – ang. *cell division control protein 42 homolog*, białko kontrolujące podział komórki (mała GTP-aza należąca do rodziny Rho)

CDH1 – ang. *cadherin 1 gene* (synonimy: *type 1, E-cadherin gene*, Arc-1, CAM 120/80, CD324, CDHE, *Cadherin-1 gene*)

CDK4 – ang. *cyclin-dependent kinase 4*, zależna od cykliny kinaza serynowo-treoninowa 4

CDK6 – ang. *cyclin-dependent kinase 6*, zależna od cykliny kinaza serynowo-treoninowa 6

CDKN2A – ang. *cyclin-dependent kinase inhibitor 2A gene*, gen inhibitora 2A kinazy zależnej od cykliny [synonimy: *multiple tumor suppressor 1* (MTS-1), p16^{INK4A}]

CDKN2B – ang. *cyclin-dependent kinase inhibitor 2B gene*, gen inhibitora 2B kinazy zależnej od cykliny [synonimy: *multiple tumor suppressor 2* (MTS-2), p15^{INK4B}]

CDKN2C – ang. *cyclin-dependent kinase inhibitor 2C gene*, gen inhibitora 2A kinazy zależnej od cykliny (synonimy: CDKN6, *cyclin-dependent kinase 4 inhibitor C*, *cyclin-dependent kinase 6 inhibitor*, INK4C, p18)

c-fos – ang. *FBJ osteosarcoma oncogene*, gen kodujący czynnik transkrypcyjny fos

CGH – ang. *comparative genomic hybridization*, porównawcza hybrydyzacja genomowa

CH157-MN – linia komórkowa oponiaka o złożonym kariotypie

CI – ang. *confidence interval*, przedział ufności

c-mos – ang. *Moloney sarcoma oncogene* (synonimy: *oocyte maturation factor mos*, *proto-oncogene c-Mos*, *proto-oncogene serine/threonine-protein kinase mos*)

c-myc – ang. *myelocytomatosis oncogene*, gen regulatorowy kodujący czynnik transkrypcyjny

COX-2 – cyklooksygenaza 2 (synonimy: cyklooksygenaza indukowana, cyklooksygenaza wzbudzona)

CpG island – wyspy CpG, bogate w dwunukleotydy cytozyna-guanina odcinki DNA; są zwykle fragmentami promotorów lub występują w ich pobliżu

c-sis – ang. *cellular homolog of the viral (v-sis) oncogene of simian sarcoma virus* (synonim: *PDGF-β proto-oncogene*), występujący u człowieka onkogen zawierający sekwencję nukleotydów homologiczną do obecnej w obszarze *v-sis* SSV (*simian sarcoma virus*); koduje prekursor łańcucha β płytkowego czynnika wzrostu (PDGFB)

CT – ang. *computed tomography*, tomografia komputerowa rentgenowska

CXCR – receptory chemokin z rodziny CXC (należą tu 7 typów receptorów oznaczanych cyframi od 1 do 7)

CycD – ang. *cyclin D*, cyklina D

DAL-1 – ang. *differentially expressed in adenocarcinoma of the lung 1 gene* (synonimy: *EPB41L3*, *erythrocyte membrane protein band 4.1-like 3*, *4.1B*, *band 4.1-like protein 3*)

DCC – ang. *deleted in colorectal carcinoma gene* (synonimy: *CRC18*, *CRCR1*, *colorectal cancer suppressor*, *IGDCC1*, *immunoglobulin superfamily DCC subclass member 1*)

DLC1 – ang. *deleted in liver cancer 1 gene* (synonimy: *ARHGAP7*, *DLC-1*, *HP protein*)

DMBT1 – ang. *deleted in malignant brain tumors 1* (synonimy: *GP340*, *glycoprotein 340*, *Gp-340*, *Hensin*)

dNTP – ang. *deoxyribonucleotide triphosphate*, trójfosforany deoksynukleotydów

DP – czynnik transkrypcyjny DP (synonim: TFDP, ang. *transcription factor DP*)

E2F – grupa czynników transkrypcyjnych występujących w komórkach wyższych organizmów eukariotycznych

EGF – ang. *epidermal growth factor*, czynnik wzrostu naskórka

EGFR – ang. *epidermal growth factor receptor*, receptor czynnika wzrostu naskórka; należy do rodziny receptorów ErbB będącej receptorowymi kinazami tyrozynowymi (synonimy: *ErbB-1*, *HER1*)

EPB41L3 – ang. *erythrocyte membrane protein band 4.1-like 3 gene*, inna nazwa genu *DAL-1*

EPB41 – ang. *erythrocyte membrane protein band 4.1 gene* (synonimy: *4.1R*, *band 4.1*, *E41P*, *EL1*, *EPB4.1*)

ERM – rodzina białek (ezryna, radyksyna i moezyna)

FERM – domena błonowa; nazwa to skrótowiec: F odpowiada białku 4.1, E – ezrynie, R – radyksynie i M – moezynie

FGF – ang. *fibroblast growth factors*, czynniki wzrostu fibroblastów; u ludzi zidentyfikowano ich 22

FISH – ang. *fluorescent in situ hybridization*, fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*

FOXM1 – ang. *forkhead box M1 gene* (synonimy: *FKHL16*, *FOXM1B*, *forkhead-related protein FKHL16*, *HFH-11*)

GADD45A – ang. *growth arrest and DNA-damage-inducible protein alpha gene* (synonimy: *DDIT-1*, *DDIT1*, *DNA damage-inducible transcript 1 protein*, *GADD45*)

GLI1 – ang. *GLI family zinc finger 1 gene* (synonimy: *glioma-associated oncogene*, *oncogene GLI*, *zinc finger protein GLI1*)

GLI2 – ang. *GLI family zinc finger 2 gene* (synonimy: *HPE9*, *THP*, *THP1*, *THP2*, *tax helper protein*)

GLIS2 – ang. *GLIS family zinc finger 2 gene* (synonimy: *GLI-similar 2*, *NKL*, *NPHP7*, *Neuronal Krueppel-like protein*, *zinc finger protein GLIS2*)

GPCR – ang. *G protein-coupled receptor gene* (synonimy: *G-protein coupled receptor PGR7*, *GALR4*, *GALRL*, *GPCR-2037*)

Ha-ras – ang. *Harvey rat sarcoma viral oncogene* (synonimy: *C-BAS/HAS*, *C-H-RAS*, *C-HA-RAS1*, *CTLO*, *GTPase HRas*)

HER2 – ang. *human epidermal growth factor receptor 2*, receptor 2 ludzkiego czynnika wzrostu naskórka (synonimy: *Neu*, *ErbB-2*, *CD340*)

HES1 – ang. *hairy and enhancer of split 1* (synonimy: *BHLHB39*, *class B basic helix-loop-helix protein 39*, *FLJ20408*, *HHL*)

HIF-1 – ang. *hypoxia-inducible factor 1*, czynnik transkrypcyjny indukowany przez niedotlenienie; wyróżniamy dwie jego formy: α i β (znane są także *HIF-2* i *HIF-3*, z których każdy ma również po dwie formy: α i β)

hTERT – ang. *human telomerase reverse transcriptase*, ludzka telomeraza (jej podjednostka białkowa)

hTR – ang. *human telomerase*, podjednostka RNA telomerazy ludzkiej

IGF – ang. *insuline-like growth factors* – insulinopodobne czynniki wzrostu; należą tu *IGF1*, czyli somatomedyna C, i *IGF2*, czyli somatomedyna A

IGF2 – ang. *insulin-like growth factor 2 gene* (synonimy: *somatomedin A*, *C11orf43*, *cell growth-inhibiting gene 44 protein*, *FLJ44734*, *GIG44*, *IGF-II*)

IOMM-Lee – linia komórkowa oponiaka złośliwego (ang. *permanent malignant meningioma cell line*) uzyskana od 61-letniego Chińczyka; Lee W.H. to tajwański patolog – założyciel hodowli i autor doniesienia

JNK – szlak sygnałowy *JNK*, od ang. *c-Jun N-terminal kinase*, kinaza fosforylująca białko *c-jun* (białko to wraz z białkiem *c-fos* tworzy czynnik transkrypcyjny *AP-1*)

LOH – ang. *loss of heterozygosity*, utrata heterozygotyczności (utrata czynności allelu genu, którego drugi allel został już wcześniej inaktywowany)

MADH2 – synonim *Smad 2* (pozostałe synonimy: *JV18*, *JV18-1*, *MAD homolog 2*, *MADR2*)

MADH4 – synonim *Smad 4* (pozostałe synonimy: *DPC4*, *deletion target in pancreatic carcinoma 4*, *JIP*, *MAD homolog 4*)

MAPK – ang. *mitogen-activated protein kinase 1* (synonimy: *ERK*, *ERK-2*, *ERK2*, *ERT1*, *extracellular signal-regulated kinase 2*)

Mdm2 – ang. *murine double minute oncogene*, gen tzw. białka *double minute* gryzoni (*double minute* to małe cząstki pozachromosomalnego DNA spotykane w *neuroblastoma* i innych nowotworach)

MEF – ang. *mouse embryonic fibroblasts*, embrionalne fibroblasty mysie

MEG3 – ang. *maternally expressed 3 (non-protein coding) gene* (synonimy: *FP504*, *GTL2*, *LINC00023*, *NCRNA00023*, *PRO0518*)

MLK3 – ang. *mixed-lineage kinase 3*, kinaza proteinowa należąca do grupy *MAPK* (ang. *mitogen-activated protein kinases*)

MMP-2 – ang. *matrix metalloproteinase 2* (inne nazwy: *72 kDa gelatinase*, *72 kDa type IV collagenase*, *CLG4*, *CLG4A*, *gelatina-se A*), macierzowa metalopeptydaza 2 (patrz *MMP-9*)

MMP-9 – ang. *matrix metalloproteinase 9* [inne nazwy: *92 kDa type IV collagenase, gelatinase B (GELB), 92 kDa gelatinase*], macierzowa metalopeptydaza 9 – enzym trawiący macierz zewnątrzkomórkową, wydzielany jako proenzym uaktywniany przez swoistą proteinazę

MRI – ang. *magnetic resonance imaging*, tomografia komputerowa rezonansu magnetycznego

mTORC1 – ang. *mammalian target of rapamycin* (inne nazwy: *FKBP12-rapamycin complex associated protein 1, FRAP1 kinase*), ssaczy cel rapamycyny (kinaza treoninowo-serynowa regulująca wzrost, proliferację i ruch komórki oraz translację i transkrypcję)

MXI1 – ang. *MAX interactor 1* (synonimy: *BHLHC11, class C basic helix-loop-helix protein 11, MAD2, MXD2, MXI*)

NDRG2 – ang. *n-myc downstream-regulated gene 2* (synonimy: *KIAA1248, Protein Syld709613, SYLD*)

NF2 – ang. *neurofibromin 2*, gen neurofibrominy 2 (merliny)

OR – ang. *odds ratio*, iloraz szans

OUN – ośrodkowy układ nerwowy

p14ARF – ang. *protein 14 alternate reading frame*, gen białka 14 (identyczny z *CDKN2A*, jednak jego produkt powstaje przy alternatywnej ramce odczytu)

p21WAF1 – białko będące inhibitorem kinaz zależnych od cyklin [synonimy: ang. *cyclin-dependent kinase inhibitor 1 (CDK1), CDK-interacting protein 1 (CIP1)*], czyli odpowiednio: – inhibitor 1 kinaz zależnych od cyklin lub białko oddziałujące z *CDK1*

p53 – czynnik transkrypcyjny będący supresorem nowotworowym (synonimy: *TP53, tumour protein 53, antigen NY-CO-13, cellular tumor antigen p53, LFS1, P53, phosphoprotein p53*)

p70S6K – ang. *p70 S6 kinase* (synonim: *ribosomal protein S6 kinase*)

PAK – ang. *p21-activated kinases*, grupa czterech kinaz proteinowych serynowo-treoninowych aktywowanych przez białko p21 (*PAK1, PAK2, PAK3 i PAK4*)

PCR – ang. *polymerase chain reaction*, reakcja łańcuchowa polimerazy

PD98059 – flawonoid [2-(2'-amino-3'-methoxyphenyl)-oxanaphthalen-4-one], inhibitor MAPK

PDGF – ang. *platelet-derived growth factor*, płytkowy czynnik wzrostu

PDGF-BB – ang. *platelet-derived growth factor BB*, izoforma płytkowego czynnika wzrostu złożona z dwóch łańcuchów B (synonim: *PDGFB*)

PDGFR-β – ang. *platelet-derived growth factor receptor β* – receptor β płytkowego czynnika wzrostu (należy do typu receptorowych kinaz tyrozynowych, RTK)

PGF – ang. *placental growth factor*, czynnik wzrostu łożyska; należy do podrodziny VEGF (synonimy: *PGFL, PLGF, PIGF, PIGF-2*)

PI3K – ang. *phosphoinositide-3-kinase (delta)*, kinaza 3 fosfoinozytylowa

PKB – ang. *protein kinase B* (synonim: Akt)

pRB – ang. *retinoblastoma protein* (inne skróty: *RB, RB1*), białko retinoblastomy

PTCH1 – ang. *human homologue of Drosophila patched 1 gene* (synonimy: *BCNS, HPE7, NBCCS, PTC, PTC1*)

PTEN – ang. *phosphatase and tensin homolog gene* (synonimy: *10q23del, BZS, DEC, GLM2, MHAM*)

QPCR – ang. *quantitative polymerase chain reaction*, zwana także *real-time polymerase chain reaction*, qRT-PCR, reakcja łańcuchowa polimerazy DNA z analizą ilości produktu w czasie rzeczywistym

QuMA – ang. *quantitative microsatellite analysis*, analiza ilościowa mikrosatelitów

Rac – ang. *Ras-related C3 botulinum toxin substrate*, podrodzina małych GTP-az należąca do rodziny Rho

RAD54L – ang. *DNA repair and recombination protein RAD54-like gene* (synonimy: *RAD54, RAD54 homolog, mHR54*)

Raf – rodzina kinaz serynowo-treoninowych

Ras – nadrodzina małych GTP-az

Rho – rodzina małych GTP-az (białek sygnalizacyjnych G), należąca do nadrodziny Ras

RPS6K – ang. *ribosomal protein S6 kinase gene* (patrz S6)

ROH – ang. *retention of heterozygosity*, utrzymanie heterozygotyczności (nieobecność LOH)

S6 – S6K1 – enzym – kinaza p70-S6 (synonim: *ribosomal protein S6 kinase*)

SDF1 – ang. *stromal cell-derived factor 1*, czynnik wzrostu komórek zrębu (mała cytokina należąca do chemokin)

SDF1α – ang. *stromal cell-derived factor 1α*, izoforma α czynnika wzrostu komórek zrębu (druga izoforma to SDF1β)

SFRP1 – ang. *secreted frizzled-related protein 1 gene* (synonimy: *FRP, FRP-1, FRP1, FrzA, SARP-2*)

SHh – ang. *sonic hedgehog signaling pathway*, dosłownie: szlak sygnałowy jeża. Komórkowy szlak sygnałowy, którego miano pochodzi od liganda szlaku – białka sonic hedgehog, które nazwano imieniem bohatera gier komputerowych, niebieskiego jeża Sonica

Smad 2/3 – czynniki transkrypcyjne związane z transdukcją sygnału z receptorów TGF-β

SMO – ang. *smoothed, frizzled family receptor gene* (synonimy: *Smoh, smoothed homolog gene*)

SPP1 – ang. *secreted phosphoprotein 1 gene* (synonimy: *BNSP, BSPI, bone sialoprotein 1, ETA-1, nephropontin*)

Src – ang. *proto-oncogene tyrosine-protein kinase Src*, kinaza proteinowa tyrozyny (src od ang. *sarcoma* – mięsak)

STAT3 – ang. *signal transducer and activator of transcription 3* (synonimy: *APRF, acute-phase response factor*)

Taq polimeraza – termostabilna DNA-polimeraza; nazwa pochodzi od bakterii, z których pierwotnie była wyizolowana: *Thermus aquaticus*

TGF-α – ang. *transforming growth factor alpha* (synonimy: *pro-transforming growth factor alpha, wa-1*)

TGF-β – ang. *transforming growth factor beta* (synonimy: *CED, DPD1, LAP, TGF-beta-1*)

TIMP-1 – ang. *tissue inhibitor of metalloproteinases 1*, gen tkankowego inhibitora metaloproteinaz 1 (synonimy: *CLGI, collagenase inhibitor, EPA, EPO, erythroid-potentiating activity*)

TIMP-3 – ang. *tissue inhibitor of metalloproteinases 3*, gen tkankowego inhibitora metaloproteinaz 3 (synonimy: *HSMRK222, K222, K222TA2, metalloproteinase inhibitor 3, protein MIG-5*)

TLE2 – ang. *transducin-like enhancer of split 2* (synonimy: *ESG, ESG2, enhancer of split groucho-like protein 2, FLJ41188, GRG2*)

TLE3 – ang. *transducin-like enhancer of split 3* (synonimy: ESG, ESG3, *enhancer of split groucho-like protein 3*, GRG3, HsT18976)

TP53 – patrz p53

TP73 – ang. *tumour protein p73 gene* (synonimy: p73, *tumour protein p73*, *p53-like transcription factor*, *p53-related protein*)

TSLC1 – ang. *tumour suppressor in lung cancer 1*, białko supresorowe wyizolowane w raku niedrobnokomórkowym płuc

VEGF-A – ang. *vascular endothelial growth factor A*, czynnik A wzrostu śródbłonka naczyniowego; znane są jeszcze VEGF-B, -C i -D

VEGFR-1 – ang. *vascular endothelial growth factor receptor 1*, receptor 1 czynnika wzrostu śródbłonka; znane są jeszcze VEGFR-2 i -3

Wnt – komórkowy szlak sygnalizacyjny Wnt (nazwa od ang. *wingless* i *INT* – nazwa genu)

WSTĘP

UWAGI OGÓLNE

Oponiaki są nowotworami wywodzącymi się z komórek opony pajęczej (meningotelialnych)⁽¹⁾. Są one najczęściej występującymi łagodnymi nowotworami mózgu, stanowiącymi od 13% do 20% nowotworów wewnątrzczaszkowych. Według różnych źródeł w Stanach Zjednoczonych w ciągu roku notuje się od 23 do 44 przypadków nowych zachorowań na milion mieszkańców⁽¹⁻³⁾. Rozpoznawane są znamienne częściej u przedstawicieli rasy czarnej oraz dwukrotnie rzadziej u mężczyzn niż u kobiet, choć oponiaki o wyższych stopniach złośliwości spotyka się częściej u mężczyzn^(4,5). Przypadki kliniczne oponiaków dotyczą przeważnie chorych między 40. a 60. rokiem życia, ale częstość występowania tych nowotworów rośnie wraz z wiekiem i wydaje się najwyższa u osób po 70. roku życia^(1,2). W tej grupie wiekowej wykrywane są zwykle przypadkowo i często pozostają bezobjawowe. U dzieci oponiaki zdarzają się rzadko, stanowią od 1% do 4% wszystkich nowotworów. Pojawiają się równie często u obu płci^(6,7). Większość oponiaków umiejscowionych jest wewnątrzczaszkowo i jedynie co 10. sytuuje się w kanale kręgowym⁽⁸⁾.

BUDOWA HISTOLOGICZNA OPONIAKÓW

Oponiaki charakteryzuje znaczna różnorodność budowy histologicznej. Wyodrębniono kilkanaście postaci tych guzów; nierzadko w obrębie tego samego nowotworu ujawnić można obszary utkania różnych typów histologicznych. Wówczas za podstawę rozpoznania histologicznego przyjmuje się obraz dominujący. Znaczna większość (około 80%) oponiaków spełnia kryteria morfologiczne upoważniające do zaliczenia ich do I stopnia złośliwości wg klasyfikacji WHO. Nowotwory o II i III stopniu złośliwości stanowią odpowiednio od 15% do 20% i od 1% do 3% wszystkich oponiaków⁽¹⁾.

Wśród 15 typów histologicznych wyróżniamy 9 odmian łagodnych – WHO I⁽⁹⁾. Są to:

Oponiak meningotelialny

Obraz mikroskopowy tego oponiaka przypomina zespólnie, albowiem błony komórek nowotworu nie są dobrze widoczne w mikroskopie świetlnym. Syncytialna budowa jest zresztą

cechą charakterystyczną dla większości odmian histologicznych oponiaków. Inną typową cechą są wewnątrzjądrowe wgniebnienia cytoplazmy przypominające ciała wtrętowe, tzw. pseudoinkluzyje. Figury podziału nie są widoczne lub są nieliczne.

Oponiak włóknisty

Jest to nowotwór zbudowany z komórek wydłużonych, przypominających fibroblasty. Układają się one równolegle do siebie w szerokich, wzajemnie przeplatających się pasmach.

Oponiak przejściowy (mieszany)

Obraz mikroskopowy tego oponiaka łączy właściwości postaci meningotelialnej i włóknistej, a jego cechą znaną są liczne koncentryczne (wirowate) układy komórek. W centrum takich zawirowań dostrzec można zwykle niewielkie naczynie krwionośne, a niekiedy koncentryczne zwapnienie (ciało piaszczakowate) lub niewielkie ugrupowanie gęsto ułożonych komórek nowotworu. Figury podziału nie występują.

Oponiak piaszczakowaty

Nazwę zawdzięcza bardzo liczny koncentryczny ogniskom zwapnień (tzw. ciałom piaszczakowatym). Oponiaki o tej budowie umiejscowione są nierzadko w kanale kręgowym oraz w okolicy pasma węchowego (ang. *olfactory groove meningiomas*).

Oponiak naczyniakowaty

Występuje rzadziej niż powyższe. Jest zbudowany głównie z kanałów naczyniowych o różnej wielkości i różnej budowie ściany. Niektóre z tego typu oponiaków przypominają włókniczki, światło innych jest szerokie, a ściana pogrubiała i zwłókniała. Pomiedzy ugrupowaniami naczyń występują skupienia komórek meningotelialnych.

Oponiak drobnotorbielkowy

Jest to rzadko występująca odmiana oponiaka. Utkanie tego nowotworu jest ubogokomórkowe. Jego cechą charakterystyczną są komórki o długich wypustkach, które, łącząc się ze sobą, tworzą sznury rozdzielające niewielkie, nieregularne przestrzenie zawierające jednorodną, kwasochłoną substancję.

Oponiak wydzielniczy

Ogólny obraz mikroskopowy tej rzadkiej odmiany odpowiada budowie oponiaka meningotelialnego lub przejściowego.

Dodatkowo, w cytoplazmie mniej lub bardziej licznych komórek nowotworowych widoczne są szkliste, kwasochłonne i intensywnie PAS-dodatnie kule nazwane ciałami rzekomopiaszczakowatymi.

Oponiak z naciekami limfocytarno-plazmocytnymi

Właściwa dla tej nieczęsto występującej postaci oponiaka jest obecność obfitego nacieku zapalnego złożonego z poliklonalnych, a zatem nienowotworowych, limfocytów i komórek plazmatycznych.

Oponiak metaplastyczny

Podstawowy obraz mikroskopowy tej rzadkiej odmiany oponiaka odpowiada jednej z trzech najczęstszych postaci histologicznych (meningotelialnej, włóknistej lub przejściowej). W obrębie takiego utkania występują ogniska metaplastji pod postacią skupień komórek chrzęstnych, kostnych lub ksantomatycznych (żółtakowych), a rzadziej komórek tłuszczowych lub śluzakowych.

Wśród oponiaków o wyższym stopniu złośliwości wyróżnia się trzy typy WHO II° i trzy WHO III°⁽⁹⁾:

Oponiak jasnokomórkowy, WHO II°

Jest to rzadko występujący nowotwór zbudowany z wielobocznych komórek o jasnej, obfitującej w glikogen cytoplazmie. Typowe umiejscowienia tej odmiany to kąt mostowo-mózdkowy i okolica ogona końskiego.

Oponiak struniakowaty, WHO II°

W tej nieczęstej postaci histologicznej obrazowi oponiaka meningotelialnego lub przejściowego towarzyszą pola struniakopodobne zbudowane ze sznurów kwasochłonnych, często zawierających glikogen i przez to zwakuolizowanych komórek, otoczonych śluzakowym, PAS-dodatnim podścieliskiem.

Oponiak atypowy, WHO II°

Warunkiem koniecznym do rozpoznania tej postaci oponiaka jest obecność w utkaniu guza (zwykle typu meningotelialnego lub przejściowego) co najmniej trzech spośród pięciu cech, takich jak: znaczna gęstość komórkowa, skupienia komórek o dużym jądrze z wyraźnym jąderkiem, brak tendencji do tworzenia struktur cytoarchitektonicznych, wyraźna aktywność mitotyczna (co najmniej 4 figury podziału w 10 polach widzenia pod dużym powiększeniem), ogniska martwicy o nieregularnych, „geograficznych” kształtach.

Oponiak brodawkowaty, WHO III°

Ta rzadka postać oponiaka występuje częściej u dzieci. Cechą charakterystyczną obrazu mikroskopowego są okołonaczyniowe struktury rzekomobrodawkowate powstające w następstwie martwicy komórek nowotworu bardziej oddalonych od światła naczyń.

Oponiak rabdoidny, WHO III°

Tę bardzo rzadką postać wyodrębniono dopiero w najnowszej klasyfikacji WHO nowotworów układu nerwowego. Komórki

rabdoidne są okrągłe i mają wyraźną błonę komórkową. Jądro ułożone obwodowo posiada duże jąderko i zawiera często kwasochłonne wpuklenia cytoplazmy.

Oponiak anaplastyczny, WHO III°

Obraz mikroskopowy oponiaków anaplastycznych ukazuje wszystkie cechy wymienione w opisie oponiaka atypowego. Liczne są figury podziałów komórkowych, a ogniska martwicy obejmują nierzadko rozległe obszary utkania.

PODSTAWOWE CECHY KLINICZNE OPONIAKÓW

Aż 90% oponiaków wewnątrzczaszkowych sytuuje się nadnamiotowo. Trzy najczęściej spotykane umiejscowienia to położenie przyszczałkowe (24-31%), na sklepiści (18-25%) i na uskoku klinowym (12-23%). W dalszej kolejności spotykamy oponiaki podstawy przedniego dołu czaszki mające swój przyczep na rynience wężowej, grzebieniu kogucim lub guzku siodła (oponiak nadsiodłowy) oraz zlokalizowane w dole środkowym czaszki. Co dziesiąty oponiak położony jest w tylnej jamie czaszki. Najrzadziej nowotwory te zajmują oczodół lub rosną wewnątrzkomorowo (wówczas zwykle w części środkowej lewej komory bocznej). Do 8% chorych ma oponiaki mnogie. Zdarza się to zwłaszcza w nerwiakowłókniakowości typu II⁽¹⁰⁾.

Symptomatologia jest zależna przede wszystkim od umiejscowienia nowotworu⁽¹⁰⁾. Oponiaki przyszczałkowe wywodzą się z licznych w tej okolicy ziarnistości pajęczynówki. Z definicji pozostają one w kontakcie z zatoką strzałkową górną albo sierpem mózgu, często wrastając do światła zatoki, stopniowo ją zwężają i prowadzą w końcu do niedrożności. Te z nich, które rosną ku dołowi, sadowią się między półkulami mózgu, uciskając od góry ciało modzelowate. Większość sytuuje się na granicy 1/3 przedniej i środkowej zatoki strzałkowej górnej. Zazwyczaj zamknięcie zatoki następuje powoli, co pozwala na uruchomienie krążenia obocznego i zapobiega szybkiemu powstawaniu objawów ciasnoty. Stosunkowo najszybciej do zaburzenia odpływu żylnego i przekrwienia mózgu dochodzi w guzach rosnących w tylnej 1/3 zatoki. Najczęstsze objawy kliniczne oponiaków przyszczałkowych to bóle głowy, napady padaczkowe (często jacksonowskie, rozpoczynające się od kończyn dolnych), niedowład (na przykład opadnięcie stopy sugerujące niedowład strzałkowy), zaburzenia czucia i obustronny objaw Babińskiego^(11,12).

Bóle głowy i napady padaczkowe są typowe również dla oponiaków sklepiści⁽¹¹⁾. Ucisk na tętnice może powodować przejściowe ataki niedokrwienne. Zdarza się to zwłaszcza w oponiakach skrzydła większego [czyli najbardziej bocznie położonych oponiakach uskoku klinowego (ang. *sphenoid ridge meningiomas*), zwanych także oponiakami pterionalnymi lub 1/3 zewnętrznej skrzydła], gdyż tak usytuowane nowotwory mogą uciskać na leżącą w ich pobliżu tętnicę środkową mózgu⁽¹²⁾. Brak przy tym innych objawów, albowiem oponiaki te osiągają często bardzo znaczne rozmiary, zanim spowodują ciasnotę wewnątrzczaszkową albo napady padaczkowe.

Natomiast oponiaki skrzydła mniejszego rosnące w pobliżu wyrostka pochylego przedniego (tzw. oponiaki 1/3 wewnętrznej skrzydła) prowadzą przede wszystkim do powolnej, postępującej utraty wzroku rozpoczynającej się od jednego oka, a w dalszej kolejności wywołują bóle głowy, drgawki i wreszcie wytrzeszcz gałki ocznej⁽¹²⁾. Inne, bardziej bocznie zlokalizowane oponiaki skrzydła mniejszego (tzw. oponiaki 1/3 środkowej skrzydła) bardzo długo pozostają bezobjawowe, w końcu powodując bóle głowy, napady padaczkowe, niedowidzenie połowiczne i zmiany psychiczne. Te ostatnie są bardziej charakterystyczne dla oponiaków podczołowych (rynielki węchowej i grzebienia koguciego). Natomiast nowotwory guzka siodła prowadzą przede wszystkim do postępującej utraty wzroku oraz niewydolności przysadki.

Co tysięczny oponiak daje przerzuty odległe, zwykle do płuc, kości, wątroby, węzłów chłonnych lub nerek. Znacznie częściej ma to miejsce w oponiakach brodawkowatych – przerzuty diagnozowane są tu w 30% przypadków^(13,14).

Historia naturalna oponiaków jest w zasadzie mało poznana i prawdopodobnie różna w poszczególnych przypadkach. Zdarza się, szczególnie u ludzi starszych, iż obecne są mocno uwapnione guzy niepowiększające się w kolejnych badaniach obrazowych (tak zwane kamienie mózgu). W obserwowanej przez ponad 3 lata grupie 40 chorych powyżej 65. roku życia z bezobjawowymi, wykrytymi przypadkowo oponiakami wewnątrzczaszkowymi u 26 pacjentów nowotwór nie powiększył się, u 14 odnotowano wzrost oponiaka, natomiast objawy kliniczne wystąpiły tylko u pięciu chorych⁽¹⁵⁾. Wzrost oponiaka był bardziej prawdopodobny w przypadku braku zwapnień i początkowo dużych rozmiarów nowotworu. Jak się wydaje, u większości młodszych chorych oponiaki systematycznie rosną i nieusunięte w porę mają niepomyślne rokowanie. Średni czas upływający od wystąpienia pierwszych objawów do rozpoznania wynosi od 2 miesiące (dla nowotworów otoczonych obrzękiem) do ponad pół roku (w przypadkach bez obrzęku)⁽¹⁰⁾. Szczególne trudności diagnostyczne sprawiają oponiaki położone w górno-bocznej części stoku łączącej się z częścią skalistą kości skroniowej (ang. *petroclival meningiomas*), które zazwyczaj pozostają nierozpoznane przez okres od 2,5 do 4,5 roku⁽¹⁶⁾.

Rozpoznanie nowotworu ustala się na podstawie badania radiologicznego. Zdjęcia przeglądowe czaszki nie są współcześnie stosowane w diagnostyce oponiaków. Niemniej jednak wykonane z innych przyczyn mogą sugerować obecność nowotworu. Charakterystyczne zmiany, obserwowane w około 36% przypadków, to: hiperostoza, osteoliza, asymetryczne poszerzenie rowków naczyniowych, obecność zwapnień lub cech nadciśnienia śródczaszkowego, na przykład odwapnienia grzbietu siodła⁽⁹⁾.

Angiografia mózgu nie jest wykonywana w celu samego rozpoznania, ale okazuje się przydatna przy planowaniu zabiegu operacyjnego. Dzięki niej neurochirurg dowiaduje się o położeniu naczyń tętniczych i żylnych w stosunku do nowotworu, wydolności zatok żylnych (w tym zatoki strzałkowej górnej w oponiakach przyszałkowych) i rozpoznaje tętnice unaczyniające nowotwór, co umożliwia ich ewentualną

przedoperacyjną embolizację. Klasycznie oponiak ujawnia się na angiogramach jako masa zaopatrywana w krew przez tętnice oponowe⁽⁹⁾.

Kluczowe znaczenie dla rozpoznania mają tomografie komputerowe: rentgenowska i rezonansu magnetycznego. Badanie CT pokazuje hiperdensyjną, rzadziej izodensyjną masę, dobrze ograniczoną i mającą regularny kształt, silnie i jednolicie wzmacniającą się po podaniu kontrastu. Niekiedy zdarzają się oponiaki torbielowate. Czasem oponiakom towarzyszy obrzęk, którego nasilenie zależy nie tyle od typu histologicznego, co od umiejscowienia i unaczynienia nowotworu. Dzięki oknom kostnym dużo prościej jest dojrzeć zmiany spotykane na przeglądowych zdjęciach rentgenowskich czaszki⁽¹⁷⁾.

W badaniu MRI oponiaki są często izointensywne we wszystkich sekwencjach, tak że niekiedy można je przeoczyć. Po podaniu gadolinu obraz nowotworu ulega silnemu wzmocnieniu, co umożliwia dokładną ocenę jego położenia w stosunku do struktur nerwowych i opony twardej⁽¹⁷⁾. Diagnostyka różnicowa obejmuje przede wszystkim chłoniaki, obłoniaki i przerzuty. Nowotwory te bywają bardzo trudne do odróżnienia od oponiaków⁽¹⁰⁾.

Leczenie oponiaków polega przede wszystkim na chirurgicznym usunięciu nowotworu. Stopień trudności zabiegu, a tym samym ryzyka operacyjnego, jest bardzo różny i zależy w dużej mierze od umiejscowienia nowotworu, jego wielkości i stanu chorego. Radykalność resekcji określana jest wg skali Simpsona⁽¹⁸⁾. Stopień I oznacza całkowite usunięcie guza wraz z oponą twardą, z której wyrastał, i ewentualnie kością. Stopień II to usunięcie całkowite, ale opona zostaje jedynie skoagulowana w miejscu przyczepu. Stopień III odpowiada całkowitej resekcji nowotworu, lecz bez koagulacji przyległej opony twardej, zaś stopień IV oznacza usunięcie częściowe. W oryginalnej pracy Simpsona wyróżniony został też stopień V, równoznaczny z kraniektomią odbarczającą i, ewentualnie, biopsją. Odsetek wznów, w zależności od stopnia resekcji, wynosił odpowiednio (od I do III): 9%, 16% i 29%⁽¹⁸⁾. Jääskeläinen i wsp., analizując losy 657 chorych po resekcji stopnia I lub II, stwierdzili, iż odsetek nawrotów wyniósł 9% w ciągu 7,5 roku (mediana nawrotu), lecz w ciągu 20-letniej obserwacji wznowa wystąpiła u 19% chorych⁽¹⁹⁾. Dane te dotyczą w istocie oponiaków histologicznie łagodnych; ryzyko nawrotu po radykalnej operacji przy 5-letniej obserwacji chorych z oponiakami o II i III stopniu złośliwości sięga odpowiednio 40% i 80%^(1,19).

U tych pacjentów radioterapia jest ważnym elementem uzupełniającym leczenie, który znacznie zmniejsza ryzyko wznowy^(20,21). Korzystne rezultaty opisywano także po napromienianiu częściowo usuniętych oraz w ogóle nieoperowanych łagodnych oponiaków⁽²²⁾. W tych przypadkach używano dużych dawek (od 45 do 65 Gy), co stwarzało znaczne zagrożenie powikłaniami. Zagrożenie to można wyeliminować, stosując naświetlanie metodami stereotaktycznymi^(23,24).

W wybranych przypadkach korzystne może być leczenie brachyterapią⁽²⁵⁾.

Klasyczna chemioterapia jako leczenie wspomagające w oponiakach wydaje się nieskuteczna⁽¹⁰⁾.

ETIOPATOGENEZA OPONIAKÓW

Etiologia oponiaków zawsze była przedmiotem szczególnego zainteresowania. Cushing i Eisenhardt sugerowali, że czynnikiem inicjującym rozwój nowotworu może być uraz głowy, jednak późniejsze badania nie potwierdziły takiej zależności^(6,26). Wykazano natomiast niewątpliwą związek między ekspozycją na radioterapię a występowaniem tego nowotworu⁽²⁷⁾. Najważniejszym dowodem epidemiologicznym było znamienne częstsze występowanie oponiaków wśród 17 tysięcy żydowskich dzieci, które po imigracji do Izraela w latach 1949-1960 leczono napromienianiem z powodu grzybicy skóry głowy (*tinea capitis*). Co więcej, wśród indukowanych w ten sposób nowotworów przeważały oponiaki atypowe i anaplastyczne⁽²⁸⁾.

W oponiakach wykrywano DNA niektórych papowawirusów, jednakże nie udało się udowodnić, że zakażenie tymi wirusami prowadzi do rozwoju nowotworu⁽⁷⁾.

Wydaje się, że wzrost oponiaków może być stymulowany przez żeńskie hormony płciowe⁽²⁹⁻³¹⁾. Już Cushing i Eisenhardt opisywali przypadki gwałtownego pogorszenia stanu kobiet z oponiakami po zajściu w ciążę. Obserwowano także częstsze występowanie tych nowotworów u kobiet chorujących na raka piersi^(6,32). W komórkach oponiaków znajdowano receptory progesteronowe (81% u kobiet i 40% u mężczyzn), rzadziej estrogenowe lub androgenowe⁽³³⁾. Choć stwierdzono, że ekspresja receptorów progesteronowych jest wyższa w oponiakach łagodnych i pozostaje odwrotnie proporcjonalna do stopnia złośliwości i tempa wzrostu guza⁽³⁴⁻³⁸⁾, to wydaje się, iż ich pobudzenie prowadzi do wzrostu nowotworu. Stąd też podejmowane były próby kliniczne leczenia oponiaków za pomocą leku antyestrogenowego – tamoksyfenu⁽³⁹⁾ i mifepristonu (RU-486), będącego środkiem przeciwprogesteronowym⁽⁴⁰⁾.

BIOLOGIA MOLEKULARNA OPONIAKÓW

Biologia molekularna oponiaków pomimo częstości ich występowania i znaczenia klinicznego nie została dotąd dobrze poznana, a liczba prac poświęconych temu zagadnieniu jest istotnie mniejsza, niż ma to miejsce w przypadku glejaków. Tymczasem zrozumienie zmian występujących w trakcie powstania i rozwoju oponiaka, zarówno genetycznych, jak i zachodzących w szlakach sygnałowych komórek, pozwoliłoby zapewne na właściwszą ocenę klinicznego zachowania się nowotworu, poprawiło trafność rokowania i otworzyło pole do wprowadzania nowych form leczenia.

Poniżej przedstawiono krótki przegląd aktualnej wiedzy na temat zmian molekularnych w oponiakach.

ZMIANY W OBRĘBIE GENÓW SUPRESOROWYCH

Genami supresorowymi nazywamy geny kodujące białka, których działanie polega na hamowaniu procesów prowadzących do rozwoju nowotworu. Według hipotezy Knudsona do powstania nowotworu dochodzi w przypadkach utraty funkcji obu alleli, albowiem w celu utrzymania prawidłowych procesów regulacyjnych komórki wystarczy sprawne działanie jednego

z nich⁽⁴¹⁾. Najważniejsze poznane geny supresorowe związane z powstawaniem oponiaków to: *NF2*, *DAL-1*, *TIMP-1*, *TIMP-3*, *CDKN2A*, *CDKN2B*, *p14ARF*, *NDRG2*, *BAM22* i *DLC1*.

Gen *NF2* położony na ramieniu długim chromosomu 22. (22q12.2) koduje białko zwane merliną. Jego brak objawia się rozwojem mnogich oponiaków i nerwiaków osłonkowych w OUN, podobnie jak ma to miejsce w nerwiakowłókniakowości typu II, w przypadku której utrata funkcji tego genu występuje u wszystkich chorych^(42,43). U chorych z pojedynczymi oponiakami sytuacja taka ma miejsce średnio w 60% przypadków⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾. Stwierdzono, że mutacje omawianego genu są najrzadsze w oponiakach wydzielniczych (ich częstość jest tu mniejsza niż 1%) i oponiakach meningotelialnych (25-28,5%)^(47,48). W pozostałych odmianach oponiaków WHO I° częstość mutacji wynosi od 70 do 86%^(48,49). Wartość ta jest podobna w oponiakach WHO II° i WHO III°⁽⁴⁹⁾. Przytoczone dane sugerują, iż najprawdopodobniej występuje cytotogenetyczne zróżnicowanie genetyki różnych typów oponiaków łagodnych. Kros i wsp. zauważyli znamienne korelację pomiędzy brakiem zmian na ramieniu długim chromosomu 22. a umiejscowieniem oponiaka w przednim dole czaszki, co wytłumaczyli częstym występowaniem w tym położeniu oponiaków meningotelialnych⁽⁵⁰⁾. Produkt *NF2* – merlina, podobnie jak ezryna, radyksyna i moezyna (tak zwane białka ERM), należy do rodziny białek 4.1. Ich funkcja polega między innymi na łączeniu białek integralnych błony komórkowej z korową częścią cytoszkieletu⁽⁴⁷⁾. Stąd niedobór merliny może prowadzić do zmiany kształtu komórki z fenotypu nabłonkowego na mezenchymalny. Wiele danych wskazuje również na to, iż merlina odgrywa także ważną rolę w kontroli wzrostu i ruchliwości komórek. Pozbawione merliny embrionalne fibroblasty mysie (MEF) wykazują nieprawidłowy wzrost i skłonność do przemieszczania się spowodowaną destabilizacją połączeń międzykomórkowych^(51,52). Z kolei u heterozygotycznych myszy z mutacją *NF2* obserwowano rozwój nowotworów z licznymi przerzutami⁽⁵³⁾. Zarówno w badaniach *in vitro*, jak *in vivo* reekspresja merliny prowadziła do zahamowania wzrostu nowotworu i ruchliwości komórek⁽⁵⁴⁻⁵⁸⁾. Choć mechanizm kontroli wzrostu komórek pajęczynówki przez merlinę pozostaje niejasny, to sądzi się, iż ważną rolę odgrywa tu jedna z trzech domen położona w błonie komórkowej merliny (domena FERM), poprzez którą dochodzi do kontaktu merliny z białkami, takimi jak paksylina, aktyna i syntenina, pełniącymi funkcje regulacyjne w cytoszkielecie^(1,59-62). Merlina wiąże się także z cytoplazmatycznym końcem receptora błonowego CD44, tworząc tym samym kompleks białkowy regulujący wzrost komórki w zależności od sygnałów płynących z otoczenia (ów kompleks hamuje na przykład wzrost komórki przy zwiększonej gęstości komórkowej otoczenia)⁽⁵⁷⁾.

Merlina okazała się również inhibitorem mTORC1, czyli kinazy serynowo-treoninowej hamowanej przez rapamycynę. Czynność mTORC1 jest zaburzona w zespole mnogich hamartomatów, a także w wielu nowotworach złośliwych oraz u pacjentów z oponiakami z mutacją *NF2*^(63,64). Aktywacja mTORC1 wiedzie do fosforylacji czynnika 4EBP1 i S6 kinazy 1., co prowadzi do zwiększonej syntezy białka i biogenezy

rybosomów⁽⁶⁴⁾. Warto zauważyć, iż inhibicja mTORC1, czy to za pomocą rapamycyny, czy też na drodze hamowania czynników stymulujących aktywność mTORC1 (takich jak kinaza PI3K), może stanowić obiecujący cel wysiłków terapeutycznych.

Merlina wydaje się pozostawać w sprzężeniu zwrotnym z niektórymi szlakami sygnałowymi (jak Rho/GTP-aza i Rac/PAK) odpowiedzialnymi za organizację cytoszkieletu i syntezę białek. I tak Rac i CDC-42 poprzez PAK prowadzą do inaktywacji merliny na drodze fosforylacji seryny 518, zaś ekspresja merliny hamuje ten szlak sygnałowy. Ponadto merlina wpływa na transkrypcję cykliny D1 będącej protoonkogenem kodującym podjednostkę regulacyjną zależnych od cyklin kinaz regulujących cykl komórkowy⁽⁶⁵⁾. Zmniejszając aktywność PAK-u, merlina hamuje zależną od PAK1 ekspresję cykliny D1, prowadząc w ten sposób do zatrzymania cyklu komórkowego w fazie G₁⁽⁶⁵⁾. Gen *DAL-1* (znany także jako *EPB41L3*) umiejscowiony na ramieniu krótkim 18. chromosomu (18p11.32) koduje kolejne białko należące do rodziny 4.1, a mianowicie białko 4.1B. Opisano także mniejsze białko DAL-1 stanowiące fragment 4.1B i wykazujące właściwości supresyjne tożsame z białkiem 4.1B⁽⁶⁶⁾. Choć w jednej z prac LOH w obrębie *DAL-1* stwierdzono w 60% przypadków sporadycznych oponiaków⁽⁶⁷⁾, to w innej Nunes i wsp. donosili, iż jedynie 12 spośród 62 oponiaków (19%) wykazywało LOH obejmujący *DAL-1*. Ponieważ 11 z nich miało również LOH genu *NF2*, zasugerowano, iż *DAL-1* odgrywa rolę w progresji oponiaka, a nie przy jego powstawaniu⁽⁶⁸⁾. Za tą tezę przemawiał dodatkowo fakt stwierdzenia monosomii chromosomu 18. w 3 z 4 przypadków oponiaków WHO II°, zaś dużych delecji 18p tylko u 2 z 3 chorych z oponiakami WHO I°. W innym badaniu obejmującym 83 oponiaki częstość mutacji *DAL-1* była również bardzo niska, wobec czego pojawiła się sugestia, iż obniżona ekspresja genu może być spowodowana zmianami epigenetycznymi^(37,69-71).

Uważa się, iż białko 4.1B/DAL-1, będąc regulatorem wzrostu i apoptozy, hamuje powstawanie oponiaka⁽⁶⁶⁾. Białko to, podobnie jak merlina, ma 3 domeny (w tym FERM), które są przedzielone obszarami zwanymi U1, U2 i U3. Wśród nich kluczową rolę odgrywa U2, gdyż to jego nieobecność osłabia supresję wzrostu komórek oponiaka. Natomiast reekspresja białka 4.1B/DAL-1 ponownie hamuje wzrost nowotworu⁽³⁷⁾. Choć dokładny mechanizm działania 4.1B/DAL-1 pozostaje niewyjaśniony, to przypuszcza się, iż związany jest on z aktywacją szlaku JNK w sposób zależny od U2. W jej wyniku dochodzi do aktywacji kaskad sygnału związanych z kinazami Src i MLK3 oraz GTP-azą Rac1. Pobudzenie szlaku JNK prowadzi do zahamowania wzrostu komórek poprzez zmniejszoną ekspresję cykliny A, hiperfosforylację białka Rb (retinoblastomy) i zatrzymanie cyklu komórkowego w fazie G₀-G₁⁽⁶⁶⁾.

Białko 4.1B/DAL-1 wykazuje także swoje powinowactwo do rodziny białek 14-3-3 występujących w pobliżu błony komórkowej. Białka te nie łączą się z żadnymi innymi białkami z rodziny 4.1^(37,72). Ich funkcja polega na regulacji transdukcji sygnału i apoptozy.

Innym białkiem wiążącym się z 4.1B/DAL-1 jest TSLC1. Jego zmniejszona ekspresja koreluje dodatnio z wyższym stopniem

złośliwości oponiaków i przemawia za gorszym rokowaniem, natomiast reekspresja spowalnia wzrost nowotworu⁽⁷³⁾.

Tkankowe inhibitory metaloproteinaz TIMP-1 i TIMP-3 są białkami regulującymi aktywność MMP-9 oraz MMP-2, w konsekwencji wpływając na proliferację komórek, apoptozę i angiogenezę⁽⁷⁴⁾. Kodujące je geny *TIMP-1* (locus Xp11.3-p11.23) i *TIMP-3* (22q13.1) są kojarzone z agresywnym przebiegiem klinicznym i naciekającym wzrostem oponiaka. Halaka i wsp. donosili o znamienne obniżonych poziomach TIMP-1 w oponiakach o wyższym stopniu złośliwości⁽⁷⁵⁾. Mizoue i wsp. wykazali, że zmniejszone wydzielanie TIMP-1 jest związane z tendencją do naciekającego wzrostu⁽⁷⁶⁾. Obniżone poziomy TIMP-1 kojarzono także z tendencją do wytwarzania mikrotorbieli⁽⁷⁷⁾.

Z kolei inaktywacja *TIMP-3* poprzez metylację sprzyja rozwojowi oponiaków o wyższym stopniu WHO. Hipermetylację promotora *TIMP-3* stwierdzono w 67% oponiaków anaplastycznych, 22% atypowych i 17% oponiaków WHO I°⁽⁷⁸⁾.

Ramię krótkie chromosomu 9. odgrywa szczególną rolę w rozwoju oponiaków, albowiem jego fragment 9p21.3 zawiera aż trzy geny supresorowe: *CDKN2A*, którego produktem jest białko p16, *CDKN2B* kodujący białko p15 i *p14ARF* z produktem p14ARF^(79,80).

Pełną utratę 9p stwierdzono w 38% oponiaków anaplastycznych, 18% atypowych i jedynie 5% WHO I°. Co więcej, nienaruszone ramię krótkie chromosomu 9., ale z homozygotycznymi delecjami wszystkich trzech wyżej wymienionych genów zidentyfikowano w 46% oponiaków anaplastycznych oraz w 3% atypowych⁽⁷⁹⁾. Znaczenie omawianych zmian dla rozwoju oponiaków złośliwych potwierdzili także Goutagny i wsp., którzy wykazali, iż utrata *CDKN2A/CDKN2B* jest najczęstszą nieprawidłowością towarzyszącą progresji oponiaków WHO II° do WHO III°⁽⁸⁰⁾.

Geny *CDKN2A* i *CDKN2B* regulują cykl komórkowy na granicy faz G₁ i S poprzez inhibicję kompleksów cykliny D z cyklozależnymi kinazami (CDK4 i CDK6). W normalnych warunkach kompleks CycD-CDK fosforyluje białko pRB (białko retinoblastomy), które w ten sposób zostaje dezaktywowane, uwalniając jednocześnie dimer składający się z białek E2F i DP. Ów aktywny kompleks E2F-DP zezwala na transkrypcję niezbędną do inicjacji fazy S⁽¹⁾. Aktywacja transkrypcji dotyczy przy tym także *p14ARF*. Produkt tego genu blokuje białko Mdm2, które normalnie uczestniczy w degradacji p53⁽⁸¹⁾. Zatem p14ARF sprzyja aktywności p53 – białka będącego inhibitorem cyklu komórkowego, hamuje wzrost nowotworu, inicjuje naprawę DNA i apoptozę. Inhibicja cyklu przez p53 odbywa się między innymi poprzez aktywację białka p21WAF1, które wraz z białkami p15 i p16 hamuje kompleks CycD-CDK. W ten sposób zamyka się pętla regulacyjna sprzężenia zwrotnego szlaku pRB/p53⁽¹⁾.

Kolejnym ważnym genem biorącym udział w patogenezie oponiaków jest *NDRG2* położony na ramieniu długim 14. chromosomu (14q11.2). Jego obniżona ekspresja jest stałą cechą oponiaków anaplastycznych oraz podgrupy atypowych oponiaków wykazujących agresywny przebieg kliniczny⁽⁸²⁾. Według Liu i wsp. w 40% przypadków oponiaków WHO II° i III° przyczyną mniejszej ekspresji jest hipermetylacja promotora⁽⁴⁷⁾. O zmniejszonej ekspresji *NDRG2* w oponiakach nawrotowych donosili

także Skiriute i wsp.⁽⁸³⁾ Mechanizm działania genu nie został wyjaśniony, jednakowoż pozostaje związany z funkcjami regulacyjnymi cyklu komórkowego, różnicowania komórek i apoptozy⁽⁸⁴⁻⁸⁸⁾.

Delekcje w obrębie chromosomu 14. są jedną z najczęstszych zmian chromosomalnych w oponiakach^(29,89-94), a ich występowanie jest kojarzone z większym prawdopodobieństwem wznowy^(29,89,95).

Inne geny supresorowe odgrywające rolę w patogenezie oponiaków to *BAM22* (22q12.2), którego produktem jest beta-adaptyna, oraz *DLC1* (8p22-p21.3)^(96,97).

Według jednej z prac *BAM22* okazał się nieczynny w 9 spośród 71 oponiaków. Działanie genu wydaje się mieć związek z endocytozą i transportem białek w obrębie sieci aparatu Golgiego⁽⁹⁸⁾.

Ekspresja *DLC1* wydaje się obniżona w niektórych oponiakach, a jego reekspresja prowadzi do zahamowania namnażania komórek nowotworu w hodowli *in vitro*⁽⁹⁷⁾.

ONKOGENY

Są to geny odpowiedzialne za namnażanie i różnicowanie komórek, jednakże zmutowane wymykają się spod kontroli i, podlegając autonomicznej stymulacji, stają się przyczyną powstania nowotworu. Choć rola onkogenów w powstawaniu oponiaków wydaje się drugoplanowa w stosunku do tej, jaką odgrywają utraty genów supresorowych, to udało się wykazać ich istotne znaczenie w niektórych przypadkach. Poniżej przedstawiono krótki przegląd onkogenów, które mogą brać udział w patogenezie oponiaków.

Gen *c-sis* zajmujący locus 22q13.1 koduje łańcuch B płytkowego czynnika wzrostu (PDGF), stymulując namnażanie komórek guza⁽⁹⁹⁾. W literaturze jest kilka doniesień o jego nadekspresji w niektórych oponiakach⁽⁹⁹⁻¹⁰¹⁾.

Geny *c-myc* (8q24-qter) i *c-fos* (14q24.3) regulują transkrypcję, a ich nadekspresja pobudza namnażanie komórek^(81,102).

Allele *Ha-ras* (11p15.5) kodującego białko p21, będące inhibitorem CDK, oraz *c-mos* (8q11), którego produktem jest kinaza serynowa, występują zmiennie częściej nie tylko w oponiakach, ale i w innych nowotworach wewnątrzczaszkowych w porównaniu z ludźmi zdrowymi^(98,103,104).

Podwyższona ekspresja *TP73* (1p36.3) i *bcl-2* (18q21.33), których produkty są regulatorami apoptozy, wydaje się korelować dodatkowo ze stopniem złośliwości oponiaków^(105,106).

Gen *STAT3* (17q21.2), nie stwierdzany w zdrowej oponie, a kodujący białko będące aktywatorem transkrypcji oraz uczestniczące w transdukcji sygnału, wykazuje ekspresję narastającą ze stopniem złośliwości oponiaka⁽¹⁰⁷⁾. Co ciekawe, konstytucjonalna aktywność *STAT3* wiąże się z ekspresją śródbłonkowego czynnika wzrostu, który w nowotworach jest odpowiedzialny za stymulację angiogenezy⁽¹⁰⁸⁾.

KOMÓRKOWE SZLAKI SYGNALIZACYJNE W OPONIAKACH

Komórkowe szlaki sygnalizacyjne tworzą sieć kaskad sygnału kontrolujących tak podstawowe procesy wewnątrzkomórkowe,

jak embriogeneza, różnicowanie komórek i ich namnażanie. Mutacja jakiegokolwiek genu kodującego białko uczestniczące w kaskadzie może zaburzyć transdukcję sygnału i doprowadzić do rozwoju nowotworu i nowotworowych komórek macierzystych⁽¹⁰⁹⁾. Najistotniejsze dla patogenezy oponiaków szlaki sygnałowe to: SHh, Wnt/ β -katenina, Notch, PI3K/Akt i MAPK oraz pRB/p53 i JNK.

Szlak SHh

Szlak SHh jest ściśle związany nie tylko z namnażaniem i różnicowaniem komórek, lecz także z angiogenezą, modelowaniem macierzy komórkowej i homeostazą komórek macierzystych^(110,111). Laurendeau i wsp. badali zmiany w SHh w 36 przypadkach oponiaków, porównując je ze zdrową tkanką⁽¹¹⁰⁾. Zarówno w oponiakach łagodnych, jak i złośliwych stwierdzono nadekspresję następujących genów: *SMO* (7q32.1) kodującego wygładzone białko GPCR genów transkrypcyjnych *GLI* – *GLI1* (12q13.3), *GLI2* (2q14.2) i *GLIS2* (16p13.3) oraz *FOXM1* (12p13.33). Natomiast geny *SPP1* (4q22.1) i *IGF2* (11p15.5), związane z namnażaniem i migracją komórek, miały podwyższoną ekspresję jedynie w oponiakach WHO II° i WHO III°.

PTCH1 (9q22.3) kodujący białko receptorowe SHh był opisywany już wcześniej jako gen supresorowy, do którego delekcji dochodzi w oponiakach u chorych z zespołem nablioniaków znamionowych (zespół Gorlina-Goltza)⁽¹¹²⁾. Ponieważ poziomy mRNA *PTCH1* okazały się niższe w oponiakach WHO I° niż w oponiakach II° i III°, należy sądzić, iż gen ten może odgrywać pewną rolę w początkowej fazie powstawania nowotworu, lecz nie w jego progresji⁽¹¹⁰⁾.

Szlak Wnt

Zakłócenia szlaku Wnt (Wnt/ β -katenina) także mają związek z patogenezą oponiaków.

Utratę heterozygotyczności w loci genu supresorowego *APC* (5q21-22) wykazano w 15 z 33 zbadanych oponiaków. Warto podkreślić, że LOH występował wyłącznie w oponiakach łagodnych^(37,113).

Gen supresorowy *CDHI* (16q22.1), kodujący E-kadherynę, jest ważnym modulatorem Wnt. Do jego delekcji dochodzi w co trzecim oponiaku⁽³⁷⁾. Zmniejszoną ekspresję tego genu obserwowano w oponiakach złośliwych, zwłaszcza o agresywnym – naciekającym wroście⁽¹¹⁴⁻¹¹⁶⁾. Towarzyszyła temu translokacja β -kateniny do jądra komórkowego^(37,117,118). Jednocześnie prawidłowa ekspresja zwiastowała mniejsze prawdopodobieństwo wznowy i mniejszą inwazyjność^(37,116,117).

Gen *BCR* (22q11) będący negatywnym regulatorem Wnt^(118,119) wykazuje znacząco niższą ekspresję w oponiakach, co przemawia za jego rolą jako genu supresorowego w ich patogenezie⁽¹²⁰⁾. Podobnie genem supresorowym wydaje się *SFRP1* (8p11.21) hamujący transdukcję sygnału w Wnt. Jego zmniejszoną ekspresję zanotowano w grupie oponiaków nawrotowych w porównaniu z guzami pierwotnymi⁽¹²¹⁾.

Szlak Notch

Pobudzenie jednego z czterech receptorów błonowych (Notch 1-4) prowadzi do proteolizy domeny wewnątrzkomórkowej

aktywowanego białka receptorowego, która następnie przemieszcza się do jądra komórkowego, inicjując ekspresję czynników transkrypcyjnych należących do rodziny HES (ang. *hairy and enhancer of split*)⁽¹²²⁻¹²⁴⁾. Przypuszcza się, że zaburzenia transdukcji sygnału w omawianym szlaku mają istotny udział w patogenezie oponiaków. Ekspresja HES1 jest podwyższona we wszystkich oponiakach, niezależnie od ich stopnia WHO. Towarzyszy temu zwiększona ekspresja Notch1, Notch2 oraz ligandu *Jagged*. Z kolei białka TLE2 i TLE3 (ang. *transducin-like enhancer of split 2 i 3*), należące do korepresorów modulujących aktywność HES1, wykazują podwyższoną ekspresję w oponiakach złośliwych. W jednym z badań dowiedziono, iż następstwami dysregulacji szlaku Notch w oponiakach są tetraploidia i niestabilność chromosomalna⁽¹²²⁾.

Szlaki PI3K/Akt i MAPK

Oba szlaki biorą udział w dużej liczbie procesów komórkowych, włączając w to wzrost, różnicowanie i apoptozę. Kontrolują wiele czynników wzrostowych aktywnych w oponiakach. Aktywacja kinazy PI3K (ang. *phosphoinositide-3-kinase*) prowadzi do fosforylacji Akt (zwanej także *protein kinase B*, PKB), a w następnej kolejności poprzez mTORC1 (kinazę, której rola w patogenezie oponiaków była już wspomniana przy okazji omawiania funkcji merliny) następuje aktywacja p70S6K. Wysokie poziomy ufosforylowanej Akt stwierdzono w oponiakach atypowych i anaplastycznych, lecz nie w łagodnych⁽¹²⁵⁾. Jednocześnie wortmannina, będąca inhibitorem Akt, redukuje namnażanie i długość życia komórek oponiaków złośliwych, choć nie inicjuje apoptozy.

W łagodnych oponiakach szlak MAPK (ang. *mitogen-activated protein kinase 1*) jest aktywowany już u swojego początku⁽¹²⁵⁻¹²⁷⁾. W rezultacie dochodzi do uczynnienia Ras i aktywacji poprzez fosforylację zarówno Raf, jak i MAPK^(125,128). W jednym z badań wykazano, iż PD98059 (inhibitor MAPK) spowalnia wzrost komórek i inicjuje apoptozę w oponiakach złośliwych⁽¹²⁵⁾. Podobne spostrzeżenie poczyniono, stosując lowastatynę, która okazała się silnym inhibitorem MAPK⁽¹²⁷⁾. Jednak z drugiej strony zmniejszona ilość aktywnego MAPK zwiększa prawdopodobieństwo wznowy oponiaka. Sprzeczność ta może mieć związek z faktem, iż PD98059 hamuje również wzrost oponiaka poprzez płytkowy czynnik wzrostowy (PDGF)⁽¹²⁵⁾.

Podsumowując, aktywacja PI3K/Akt kojarzy się z agresywnym wzrostem oponiaka, zaś obniżony poziom MAPK inicjuje apoptozę przy jednoczesnym wzroście ryzyka wznowy.

Pozostałe szlaki sygnałowe

Istotę zaburzeń w szlaku sygnałowym pRB/p53 przedstawiono już wcześniej, gdy omawiano rolę genów supresorowych *CDKN2A*, *CDKN2B* i *p14ARF*.

Znaczenie pobudzenia szlaku JNK dla hamowania wzrostu oponiaka zaprezentowano w części poświęconej mechanizmowi działania 4.1B/DAL-1.

Progresję oponiaka kojarzono także ze szlakami sygnałowymi TGFβ (ang. *transforming growth factor β*) i receptora insulinowego^(129,130).

ROLA CZYNNIKÓW WZROSTOWYCH W OPONIAKACH

W działaniu wielu czynników wzrostowych pośredniczą omówione powyżej szlaki sygnałowe MAPK i PI3K/Akt. Przykładem jest płytkowy czynnik wzrostowy (PDGF-BB)⁽⁴⁹⁾. Zarówno sam czynnik, jak i jego receptor (PDGFR-β) wykazują wzmożoną ekspresję w oponiakach^(37,127,131), a zwłaszcza w nowotworach o wyższych stopniach WHO⁽³²⁾. Co więcej, dodanie PDGF-BB do hodowli komórek oponiaka nasila jej wzrost, co aktywuje MAPK oraz c-fos, podczas gdy substancje hamujące PDGF-BB powstrzymują namnażanie komórek nowotworu. W jednej z prac stwierdzono ekspresję receptora naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) w każdym z 15 zbadanych oponiaków, podczas gdy zdrowa opona go nie zawierała⁽¹³²⁾. Ekspresja ligandów EGFR, TGF-α (ang. *transforming growth factor alpha*) i EGF w omawianych nowotworach wpływa na aktywację EGFR poprzez pętlę autokrynną^(37,133,134). Podwyższona ekspresja TGF-α kojarzy się z agresywnym wzrostem oponiaka⁽³²⁾. W tego typu nowotworach wykazano również obecność czynnika TGF-β (ang. *transforming growth factor beta*) i jego receptorów typu I i II⁽³²⁾. Wydaje się, że czynnik ten jest inhibitorem wzrostu oponiaków, a w jego działaniu pośredniczą białka Smad 2/3.

SDF1 (ang. *stromal cell-derived factor 1*) i jego receptor CXCR są obecne w oponiakach, a SDF1α pobudza namnażanie komórek nowotworowych w hodowli. Podobnie BMPs (ang. *bone morphogenetic proteins*) wraz z adekwatnym receptorem (BMPR) formuje pętlę autokrynną związaną z namnażaniem komórek nowotworu⁽⁴⁹⁾.

Pozostałe czynniki wzrostowe i ich receptory badane w oponiakach to: IGF (ang. *insulin-like growth factor*), FGF (ang. *fibroblastic growth factor*), PGF (ang. *placental growth factor*), HER2 (ang. *human epidermal growth factor receptor 2*) i somatostatyna^(47,114,135).

SZLAKI ANGIOGENEZY

Mimo że oponiaki są unaczynione poprzez tętnice oponowe, ponad połowa z nich jest zaopatrywana dodatkowo przez małe naczynia proliferujące do nowotworu z powierzchni mózgu^(29,136). Śródbłonkowy czynnik wzrostowy – VEGF-A (ang. *vascular endothelial growth factor A*) i jego receptor VEGFR-1 (ang. *vascular endothelial growth factor receptor 1*) są odpowiedzialne za nowotworzenie naczyń i powstawanie obrzęku w guzach mózgu. W oponiakach ekspresję VEGF-A stwierdzono w 84% przypadków, zaś VEGFR-1 w 67%⁽⁴⁹⁾. Dane na temat ich roli są sprzeczne: dwie prace dowodzą, iż ekspresja mRNA VEGF-A koreluje dodatnio z unaczynieniem oponiaków^(29,137), lecz inna, większa (obejmująca 69 przypadków), nie wykazała takiej korelacji⁽¹³⁸⁾. Z drugiej strony stwierdzono, iż poziomy VEGF-A są dwukrotnie wyższe w oponiakach WHO II° i dziesięciokrotnie w WHO III° niż w WHO I°⁽²⁹⁾. Kolejni autorzy nie potwierdzali tej zależności⁽⁴⁹⁾. Wykazywano także związek pomiędzy poziomem ekspresji VEGF-A a prawdopodobieństwem wznowy w oponiakach łagodnych^(29,139).

Mechanizm regulujący poziom VEGF-A pozostaje nieznanym, choć podkreślano, iż zarówno EGF, jak i PDGF inicjują ekspresję VEGF-A. Ponadto VEGF-A oraz HIF-1 (ang. *hypoxia-inducible factor 1*), który jest czynnikiem transkrypcyjnym regulującym poziom VEGF, wykazują zwiększoną ekspresję w oponiakach poddanych przedoperacyjnej embolizacji⁽¹⁴⁰⁾. Innymi substancjami odgrywającymi rolę w angiogenezie w oponiakach są endoteliny⁽⁴⁹⁾.

CYKLOOKSYGENAZA 2 W OPONIAKACH

Cyklooksygenaza 2 (COX-2) jest enzymem indukowanym pod wpływem czynników zapalnych, katalizującym syntezę prostanoidów (prostaglandyn, prostacyklin i tromboksanów) z kwasu arachidonowego. Prostaglandyny to należące do grupy eikozanoidów mediatory procesów zapalnych, mające także wpływ na tak ważne procesy komórkowe, jak namnażanie, adhezja, angiogeneza czy supresja apoptozy⁽¹⁴¹⁾. Ragel i wsp. stwierdzili wysoką ekspresję COX-2 w oponiakach, sugerując, że ów enzym może brać udział w rozwoju i wzroście tych nowotworów⁽¹⁴²⁾.

TELOMERAZA JAKO MARKER PROGNOSTYCZNY W OPONIAKACH

Telomeraza to odwrotna transkryptaza, której zadaniem jest dobudowywanie sekwencji telomerowych do terminalnego odcinka nici opóźnionej. Składa się z dwu podjednostek: RNA (hTR) i białkowej (ang. *reverse transcriptase subunit*, hTERT). Stopniowi aktywności tego enzymu najlepiej odpowiada ekspresja *hTERT* mRNA⁽¹⁴³⁾.

Aktywność telomerazy obserwuje się rzadko w oponiakach WHO I° (3-21%), częściej w WHO II° (58-92%), a ponadto we wszystkich przypadkach oponiaków anaplastycznych^(55,143,144). Co więcej, aktywność enzymu zbiega się z wyższym ryzykiem wznowy oponiaka, przez co wydaje się ważnym czynnikiem prognostycznym^(143,144).

ROZWÓJ I STOPIEŃ ZŁOŚLIWOŚCI OPONIAKA A ZMIANY CHROMOSOMALNE

Na obecnym etapie wiedzy można sądzić, iż delecje na chromosomie 22. leżą u podstawy rozwoju oponiaka^(1,47,73). Zmiany wychodzące poza 22. chromosom łączy się raczej ze złośliwą progresją tego nowotworu⁽⁴⁷⁾. Zgodnie z teorią ewolucji klonalnej przemiana złośliwa nowotworu wiąże się z kumulacją kolejnych zmian chromosomalnych, w rezultacie których powstają subklony coraz bardziej agresywnych komórek z narastającymi szansami wzrostu^(94,145,146). Oponiaki atypowe i anaplastyczne wykazują bardziej złożone zmiany genetyczne niż oponiaki WHO I°. Można tu wymienić delecje na 1p, 10q, 14q, a rzadziej na 6q i 18q oraz amplifikacje na 1q, 9q, 12q, 15q, 17q i 20q^(47,73). Ponadto oponiaki anaplastyczne wykazują częstsze delecje na 6q, 10q, 14q i 9p z amplifikacją na 17q23^(138,147). Przemianie złośliwej towarzyszą zmiany epigenetyczne, również zwiększona hipermetylacja wysp CpG.

Cytogenetyczna analiza grupy 11 oponiaków, które wykazały progresję stopnia złośliwości, ujawniła, iż złożone zmiany chromosomalne były obecne już w guzach łagodnych, zanim doszło do progresji⁽¹⁴⁸⁾. Odkrycie to przeczy modelowi ewolucji klonalnej w oponiakach, sugerując, iż istnieje grupa oponiaków łagodnych o zdeterminowanej skłonności do przemiany złośliwej.

Analiza zmian chromosomalnych

Rolę i częstość występowania zmian na chromosomach 22. i 9. omówiono już wcześniej. Poniżej streszczono rolę innych zaburzeń chromosomalnych.

Chromosom 1.

Delecje 1p stanowią drugą pod względem częstości nieprawidłowość chromosomalną w omawianych nowotworach i są stwierdzane w 13-16% oponiaków WHO I°, 40-76% WHO II° i 70-100% WHO III°⁽²⁹⁾. Jako że obserwuje się je przede wszystkim w nawrotach oponiaków złośliwych, wiąże się je nie tyle z powstawaniem nowotworu, co z jego progresją. Delecja 1p oznacza ryzyko wznowy wynoszące 30%, przy jej braku nie przekracza ono 4,3%⁽⁹⁸⁾.

Na ramieniu krótkim chromosomu 1. nie zidentyfikowano jeszcze genu supresorowego biorącego udział w genezie oponiaków. Niemniej analizowano pod tym kątem następujących kandydatów: *CDKN2C*, *RAD54L*, *EPB41*, *GADD45A* i *ALPL*.

Najbardziej obiecującym wydawał się *CDKN2C* (1p32), którego produkt – p18, wraz z białkami p15, p16 i p21, uczestniczy w omawianym już wcześniej szlaku pRB/p53, hamując tworzenie kompleksu CycD-CDK i uniemożliwiając w ten sposób aktywowanie białka retinoblastomy, jednakowoż okazało się, że jego mutacje występują sporadycznie⁽⁴⁷⁾.

Podobnie w 29 zbadanych oponiakach nie odkryto żadnej mutacji *RAD54L* (1p32)⁽¹⁴⁹⁾, tak jak nie wykazano żadnych zaburzeń ekspresji *EPB41* (1p36.2-p34) i *GADD45A* (1p31.2-p31.1)⁽⁴⁷⁾.

Gen *ALPL* (1p36.1-p.34) budzi zainteresowanie, ponieważ koduje fosfatazę zasadową, a LOH na 1p jest stowarzyszony z obniżeniem aktywności tego enzymu. Niemniej jednak do tej pory nie przeprowadzono analizy mutacji tego genu⁽²⁹⁾.

Wskazuje się, iż ważną rolę w patogenezie oponiaków może odgrywać inaktywacja genów na ramieniu krótkim chromosomu 1. poprzez zmiany epigenetyczne (hipermetylacja wysp CpG promotora). Na przykład *TP73* (1p26.32) nie podlega mutacji w oponiakach, ale jego inaktywację przez metylację stwierdzono w 10 z 30 oponiaków z LOH na 1p i w 3 z 30 z niezmiennym 1p^(29,106,150). Pole do badań statusu metylacji pozostałych genów – kandydatów pozostaje otwarte.

Chromosom 14.

Delecje na chromosomie 14. stanowią trzecią pod względem częstości występowania w oponiakach zmianę chromosomalną. Dotyczą one do 31% oponiaków WHO I°, 40-70% WHO II° i 100% WHO III°^(29,89-94). Skojarzone LOH na 1p i 14q są często spotykane w oponiakach anaplastycznych i wiążą się ze złym rokowaniem⁽⁸⁶⁾. Utrata heterozygotyczności na 14p wydaje się czynnikiem prognostycznym wznowy^(29,89,95).

Ramię długie chromosomu 14. zawiera gen supresorowy *NDRG2*, którego rola w patogenezie oponiaków została już omówiona w niniejszej pracy.

Zhang i wsp. zidentyfikowali *MEG3* (ang. *maternally expressed 3 gene*) z umiejscowieniem 14q32⁽¹⁵¹⁾. Jego zmniejszoną ekspresję obserwowali w oponiakach wyższego stopnia WHO. Podczas gdy posiadające aktywność antyproliferacyjną niekodującą RNA *MEG3* wykazuje ekspresję w komórkach zdrowej pajęczynówki, to jego ekspresji nie stwierdza się w liniach komórkowych oponiaka IOMM-Lee i CH157-MN. Należy zatem sądzić, że *MEG3* jest genem supresorowym, którego działanie polega na hamowaniu syntezy DNA, objawiającym się zahamowaniem tworzenia kolonii w hodowlach oponiaka. Co więcej, *MEG3* okazuje się transaktywować umiejscowiony na ramieniu długim 17. chromosomu *TP53* (*p53*) – inny gen supresorowy odgrywający rolę w szlakach sygnalizacyjnych, których dysregulację stwierdzano w oponiakach anaplastycznych (np. pRb/p53). Warto przy tej okazji wspomnieć, że choć mutacje *TP53* są powszechne w wielu nowotworach, to zdarzają się rzadko w oponiakach. Częste są mutacje regulatorów szlaku *p53*^(73,151).

Chromosom 10.

LOH na tym chromosomie stwierdzano w 5-12% przypadków oponiaków WHO I°, 29-40% WHO II° i 40-58% WHO III°^(29,92,94,152,153). Niektórzy sugerowali, iż w rzeczywistości wartości te mogą być jeszcze wyższe^(154,155). Obecność zmian wiąże się z progresją oponiaka⁽²⁹⁾. Geny podejrzewane o udział w patogenezie nowotworu umiejscowione są na ramieniu długim (10q23-q25). Są to: *PTEN*, którego mutacje są częste w zespole Cowdena, oraz *MXII* i *DMBT1*. Jak dotąd brak doniesień potwierdzających ich znaczenie w oponiakach⁽²⁹⁾.

Chromosom 17.

Zmiany na tym chromosomie, polegające głównie na amplifikacji obserwowanej wyłącznie w oponiakach złośliwych (42% *versus* 0 w oponiakach łagodnych), spowodowały badania nad *RPS6K* – protoonkogenem o umiejscowieniu 17q23, który koduje rybosomalną kinazę proteinową S6^(29,94). Okazało się jednak, iż amplifikacja obejmuje przede wszystkim sąsiednie *loci*, zaś przypadki dotyczące *RPS6K* są rzadkie i ograniczają się do niewielkiej subpopulacji oponiaków złośliwych^(29,147).

Chromosom 18.

Utrata heterozygotyczności zdarza się tu często w oponiakach atypowych i anaplastycznych, lecz rzadko w łagodnych. Büschges i wsp. zbadali 37 oponiaków pod kątem mutacji i ekspresji *MADH2*, *MADH4*, *APM-1* i *DCC* – genów supresorowych położonych na 18q21. Znaleźli jednak tylko jedną missensowną mutację *APM-1* i zasugerowali brak istotnego znaczenia wymienionych genów w patogenezie oponiaków⁽¹⁵⁶⁾.

CELE PRACY

1. Ocena występowania LOH w miejscach położenia znanych genów supresorowych, które mogą odgrywać rolę w patogenezie oponiaków.

2. Ocena występowania LOH w okolicach mogących obejmować *loci* dotychczas niezidentyfikowanych genów tego typu na chromosomach 1. i 10.
3. Próba znalezienia zależności pomiędzy podtypem histologicznym oponiaka a rodzajem zaburzeń molekularnych.
4. Próba znalezienia takich związków w zależności od wielkości nowotworu, jego umiejscowienia, naciekania, tendencji do wznowy, wieku i płci pacjenta.
5. Próba znalezienia wzajemnych związków między utratą heterozygotyczności na badanych chromosomach.

MATERIAŁ I METODY

PACJENCI I DANE HISTOLOGICZNE

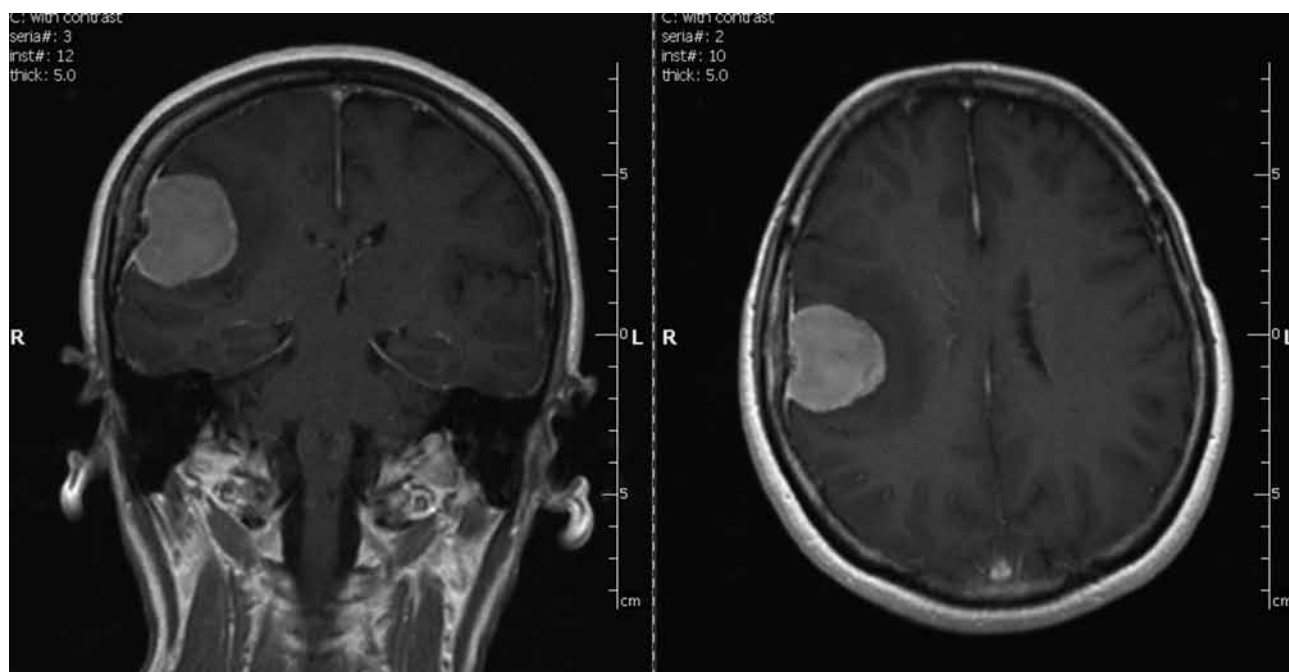
Materiał pochodził od 90 pacjentów operowanych z powodu oponiaków w Klinice Neurochirurgii i Onkologii Centralnego Układu Nerwowego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Wszyscy chorzy zostali poinformowani o zamiarze przeprowadzenia badania i wyrazili świadomą zgodę na pobranie w tym celu fragmentu usuniętego operacyjnie nowotworu oraz próbki krwi z żyły obwodowej.

Wśród chorych było 28 mężczyzn i 62 kobiety. Wiek pacjentów wahał się od 22 do 92 lat i średnio wynosił 58 lat; był nieco niższy wśród chorych z oponiakami atypowymi (54 lata) niż u chorych z nowotworami łagodnymi (59 lat). Rozpoznanie przedoperacyjne ustalano na podstawie badania CT (19 przypadków), MRI (43 chorych) lub obu tych badań (28 pacjentów).

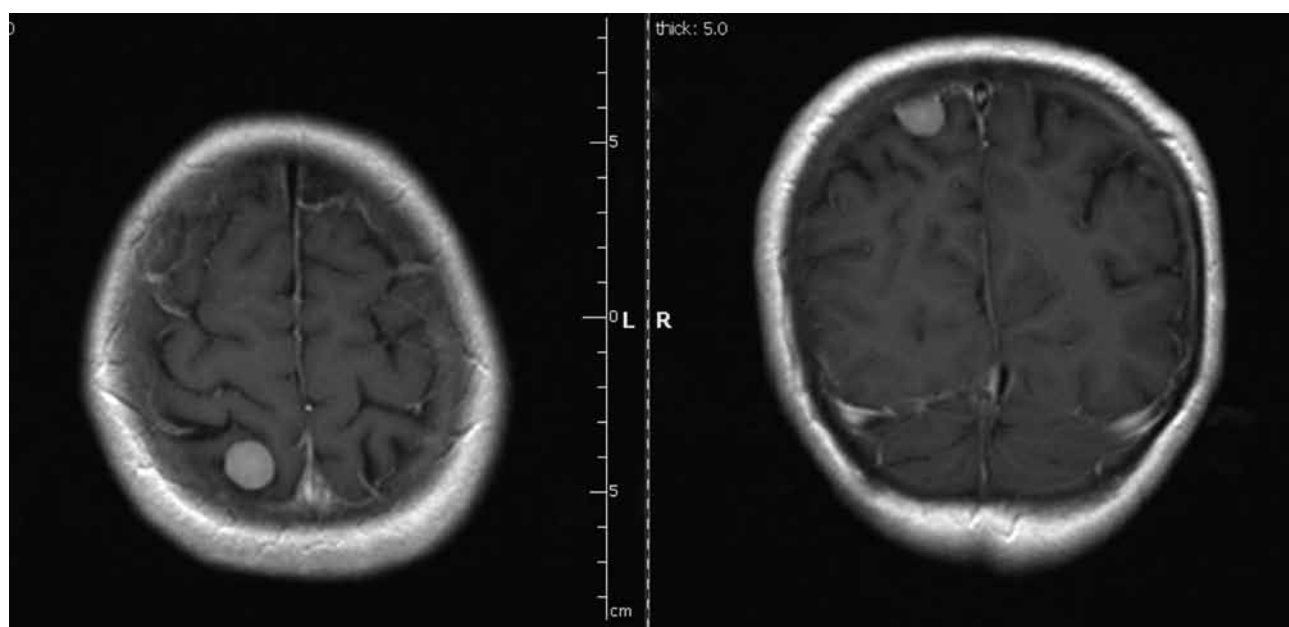
Zdecydowano się na uproszczony podział umiejscowienia nowotworów. Wyróżniono oponiaki podstawy czaszki (34 chorych), sklepiści (23 pacjentów), oponiaki przystrzałkowe (23 przypadki), oponiaki tylnej jamy niemające związku z podstawą (4 chorych) i oponiaki kanału kręgowego (6 przypadków). Przykłady badań radiologicznych u chorych z różnymi lokalizacjami nowotworów przedstawiono na rys. 1-12.

Starano się posegregować nowotwory pod względem wielkości. Oceniano ją w przypadku każdego oponiaka na badaniu komputerowym: CT z kontrastem lub MRI (obrazy zależne od czasu relaksacji podłużnej uzyskane po podaniu kontrastu), przeglądając wszystkie dostępne przekroje i mierząc największy rozmiar liniowy nowotworu. Z uwagi na brak możliwości zastosowania wolumetrii zdecydowano się na tę metodę oceny wielkości guza, gdyż w przypadku oponiaków, które są w przybliżeniu bryłami elipsoidalnymi, najdłuższy wymiar liniowy dobrze koreluje z objętością nowotworu, zaś celem pomiaru była nie tyle dokładna ocena objętości zmiany, ile skonstruowanie względnej miary wielkości badanych guzów⁽¹⁵⁷⁾. Największy rozmiar liniowy oponiaka wahał się od 1 do 9 cm (mediana 4 cm).

Wszystkich chorych operowano planowo. Doszczędność resekcji oceniano w skali Simpsona⁽¹⁸⁾. Nowotwór udało się usunąć całkowicie makroskopowo w 85 przypadkach (stopień I w skali Simpsona – 63 chorych, II – 17 pacjentów i III – 5 chorych). Fragment nowotworu pozostawiono u 5 pacjentów (Simpson IV). W trakcie zabiegu operator zwracał uwagę na klarowność granic



Rys. 1. Duży oponiak sklepistości płata ciemieniowego prawego. MRI, obraz zależny od czasu relaksacji podłużnej, po podaniu kontrastu. Projekcje czołowa i poprzeczna. Widoczny szeroki przyczep do opony twardej i strefa obrzęku dookoła guza



Rys. 2. Mały oponiak sklepistości w tylnej części płata ciemieniowego prawego w projekcjach poprzecznej i czołowej. MRI, obraz zależny od czasu relaksacji podłużnej, po podaniu kontrastu

nowotworu. Przypadki, w których odnotowano kłopoty śródoperacyjne ze zdefiniowaniem płaszczyzny podziału między nowotworem a tkanką nerwową, oznaczono umownie jako przypadki „naciekania”. W całej grupie było ich 14.

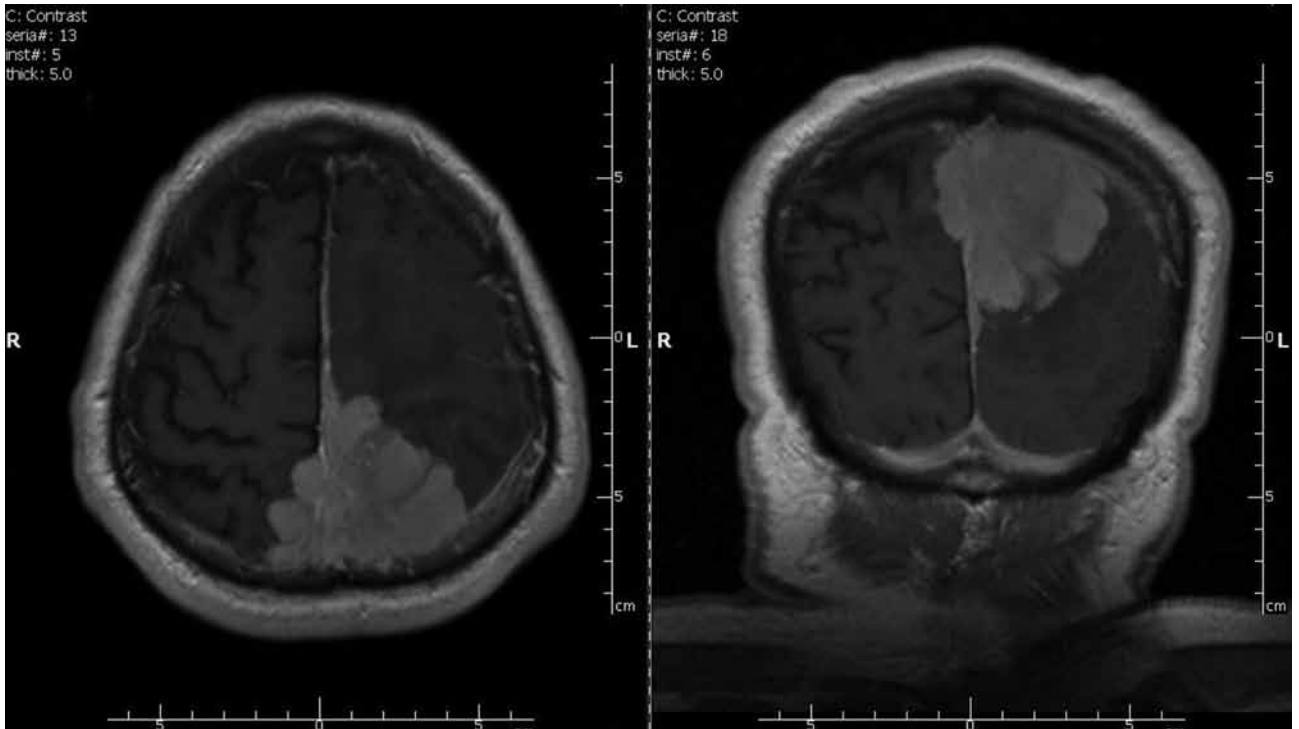
Śmiertelność okołoperacyjna wyniosła 2,2%, zmarło 2 chorych. W pierwszym przypadku przyczyną zgonu było zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych będące następstwem uporczywego płynotoku po usunięciu na drodze petrozektomii oponiaka piramidy i stoku, w drugim – zatorowość płucna

u pacjenta z masywnym obrzękiem mózgu po usunięciu oponiaka przerastającego zatokę strzałkową górną w jej 1/3 środkowej.

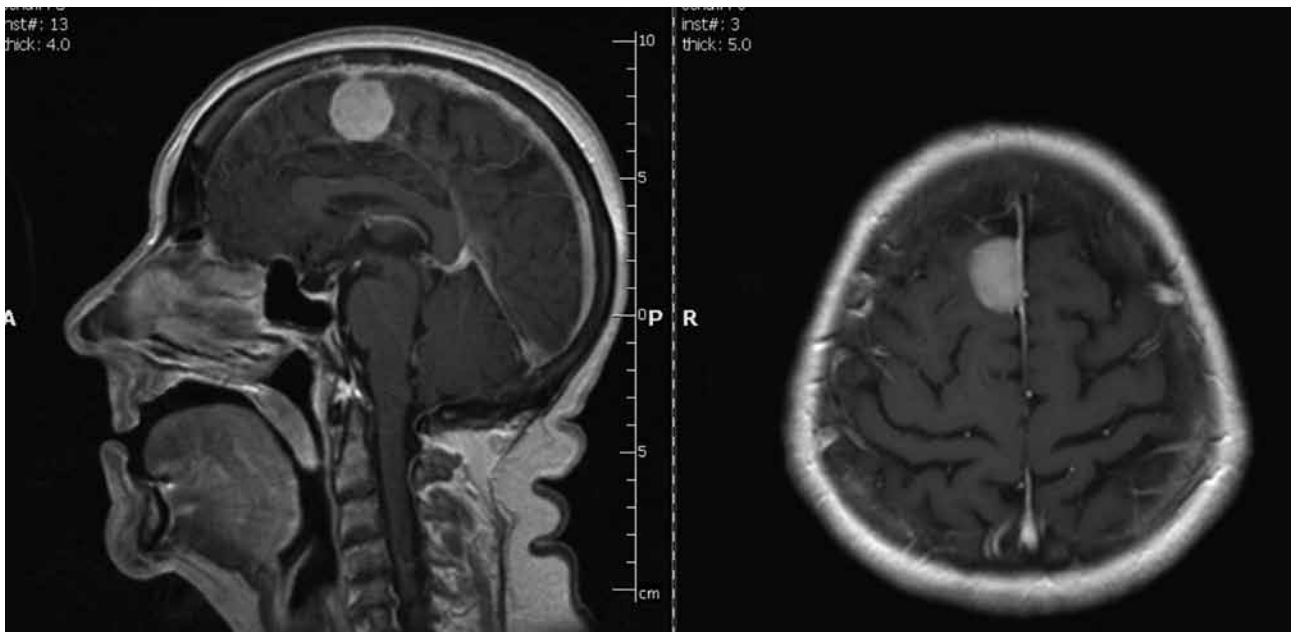
Okres obserwacji pooperacyjnej wynosił od roku do 6 lat. W tym czasie odnotowano 11 przypadków nawrotu nowotworu (mediana czasu do nawrotu to 50 miesięcy).

Podstawowe dane kliniczne streszczono w tabeli 1.

Usunięty nowotwór, utrwalony w roztworze formaliny, był przesyłany do badania histopatologicznego. W każdym przypadku



Rys. 3. Duży oponiak przystrzałkowy przerastający zatokę strzałkową górną i rosnący obustronnie na granicy płatów ciemieniowych i potylicznych. Projekcje poprzeczna i czołowa. Widać tendencję do szerzenia się wzdłuż opony twardej. Niewielki obrzęk okołoguzowy i efekt masy polegający na zaciśnięciu bruzd na sklepiści lewej półkuli. MRI, obraz zależny od czasu relaksacji podłużnej, po podaniu kontrastu



Rys. 4. Oponiak przystrzałkowy rosnący z sierpa w tylnej części płata czołowego prawego. Projekcje strzałkowa i poprzeczna. MRI, obraz zależny od czasu relaksacji podłużnej, po podaniu kontrastu

badanie przeprowadzało niezależnie trzech neuropatologów. Rozpoznanie ustalono na podstawie kryteriów obowiązującej klasyfikacji nowotworów mózgu Światowej Organizacji Zdrowia (WHO)⁽¹⁵⁸⁾. Wśród badanych nowotworów stwierdzono 75 oponiaków łagodnych (WHO I°) i 15 atypowych (WHO II°). Przykłady obrazów mikroskopowych każdego z napotkanych

podtypów histopatologicznych przedstawiono na rys. 13-19. Materiał do badań molekularnych stanowił niewielki fragment nowotworu o objętości około 1 cm³, który bezpośrednio po usunięciu zamrażano w temperaturze -70°C. Pobierano także próbkę krwi obwodowej, którą umieszczano w temperaturze 4°C.

Cecha	Stopień złośliwości oponiaków		
	Łagodne	Atypowe	Wszystkie
Liczba przypadków	75	15	90
Stosunek M/K*	1 : 2,57	1 : 1,14	
Wiek w latach Średnia ±SD	59±14	54±18	
Wznowa	9	2	11
Naciekanie	10	4	14
Umiejscowienie:			
podstawa	29	5	34
sklepiście	20	3	23
przysrzałkowo	18	5	23
tylna jama	3	1	4
kanał kręgowy	5	1	6

* Stosunek mężczyzn do kobiet.

Tabela 1. Podstawowe dane kliniczne

POZYSKIWANIE I EKSTRAKCJA DNA

DNA izolowano z mrożonych tkanek nowotworu oraz z leukocytów krwi obwodowej metodą ekstrakcji chloroformowo-fenolowej. W dalszej kolejności określano stężenie i ilość otrzymanego DNA, badając jego czystość i zawartość białka. Gotowe do dalszych badań próbki były przechowywane w temperaturze -20°C.

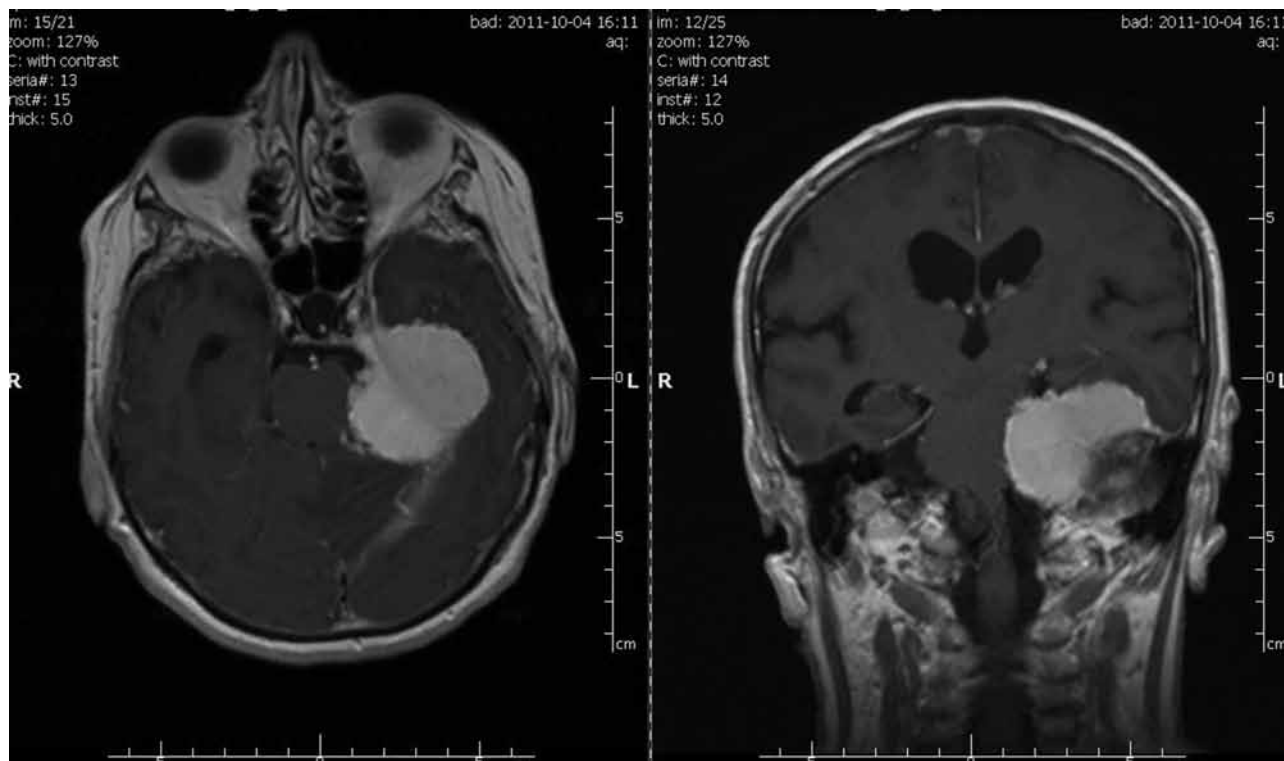
ANALIZA UTRATY HETEROZYGOTYCZNOŚCI

Sparowane próbki DNA pozyskanego z leukocytów i nowotworu poddano analizie na utratę heterozygotyczności przy użyciu

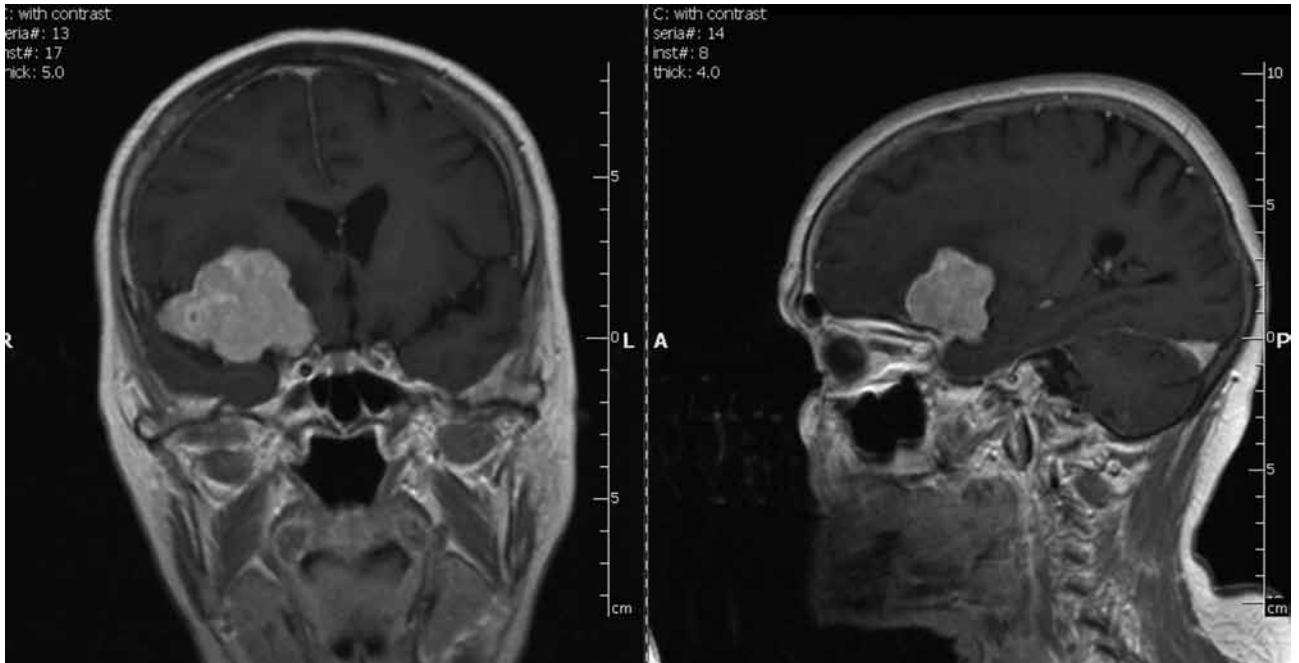


Rys. 5. Olbrzymi oponiak grzebienia koguciego rosnący w rzucie obu płatów czołowych i sięgający ku tyłowi do dołu międzykonarowego. Stosunkowo niewielki obrzęk okołoguzowy. Obraz CT po podaniu kontrastu

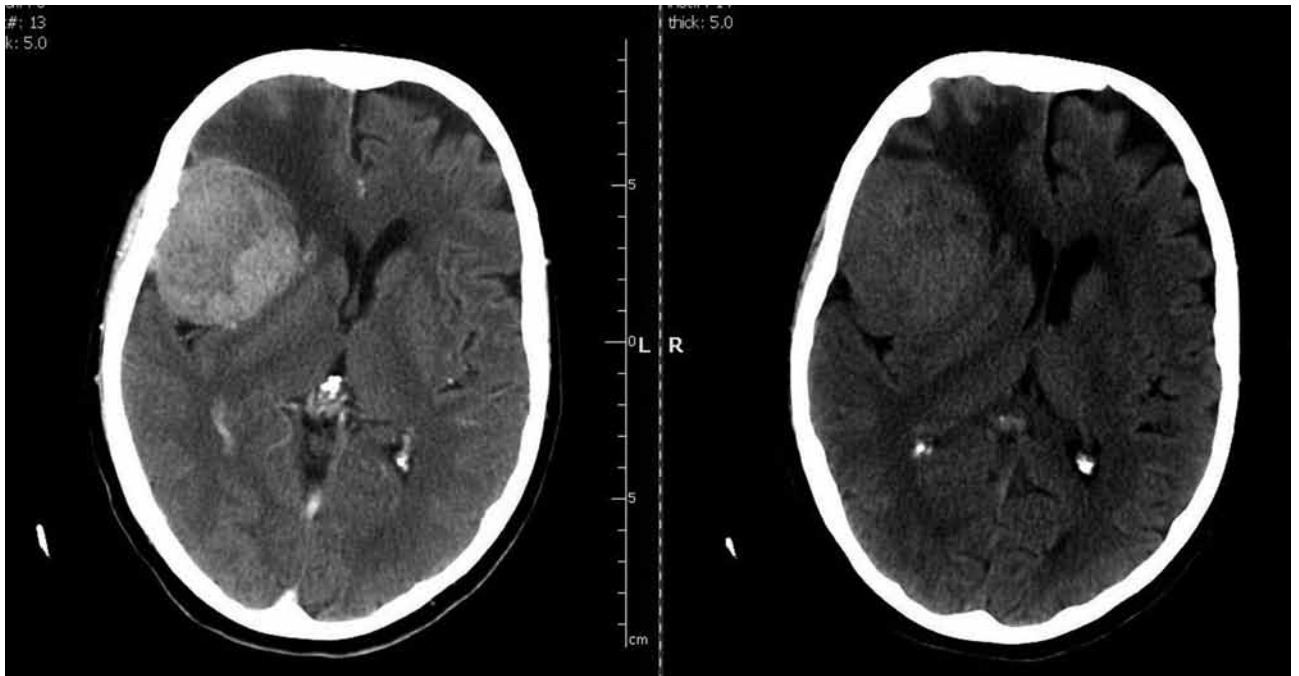
24 markerów mikrosatelitarnych (HVD Holding AG Germany). Przebadano następujące loci: cztery na chromosomie 1. (D1S508, D1S199, D1S197, D1S162), cztery na chromosomie 9. (D9S156, D9S162, D9S319, D9S1748), cztery na chromosomie 10. (D10S197, D10S209, D10S587, D10S1709), dwa na chromosomie 14. (D14S292, D14S1010), jeden na chromosomie 18. (D18S481) i dziewięć na chromosomie 22. (D22S257,



Rys. 6. Duży oponiak okolicy szczytu piramidy lewej i stoku. MRI, obraz zależny od czasu relaksacji podłużnej, po podaniu kontrastu, projekcje poprzeczna i czołowa



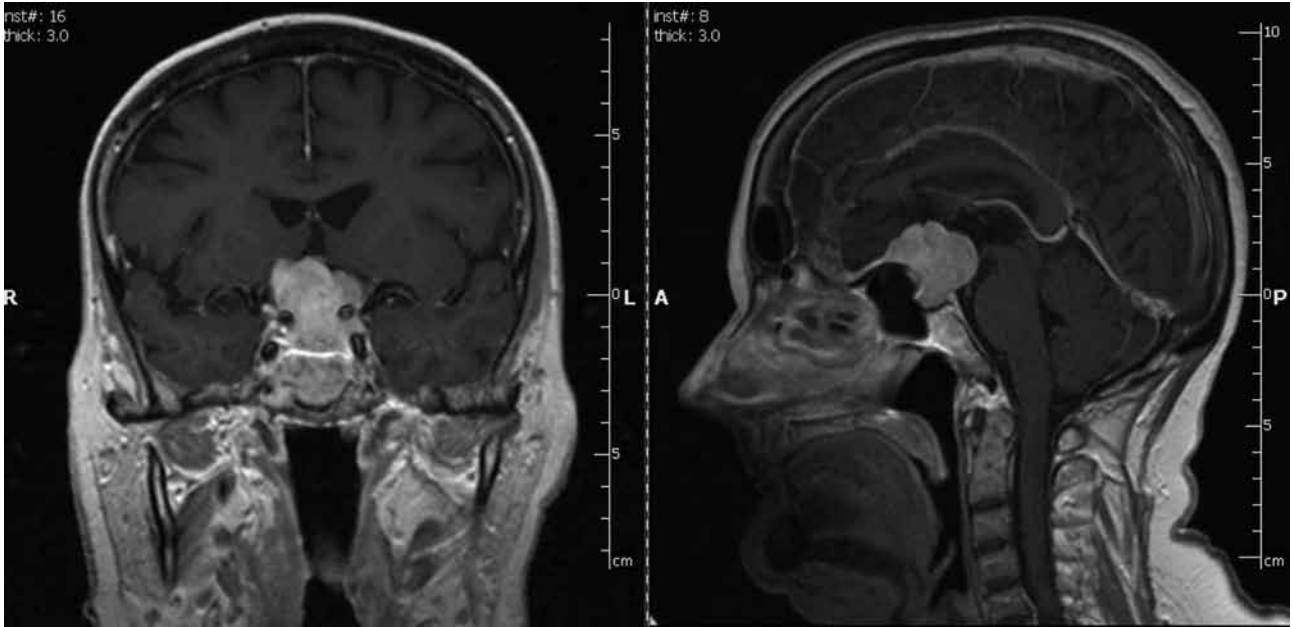
Rys. 7. Duży oponiak 1/3 przyśrodkowej uskoku klinowego. Zaznaczona niewielka strefa obrzęku. MRI, obraz zależny od czasu relaksacji podłużnej, po podaniu kontrastu, projekcje czołowa i strzałkowa



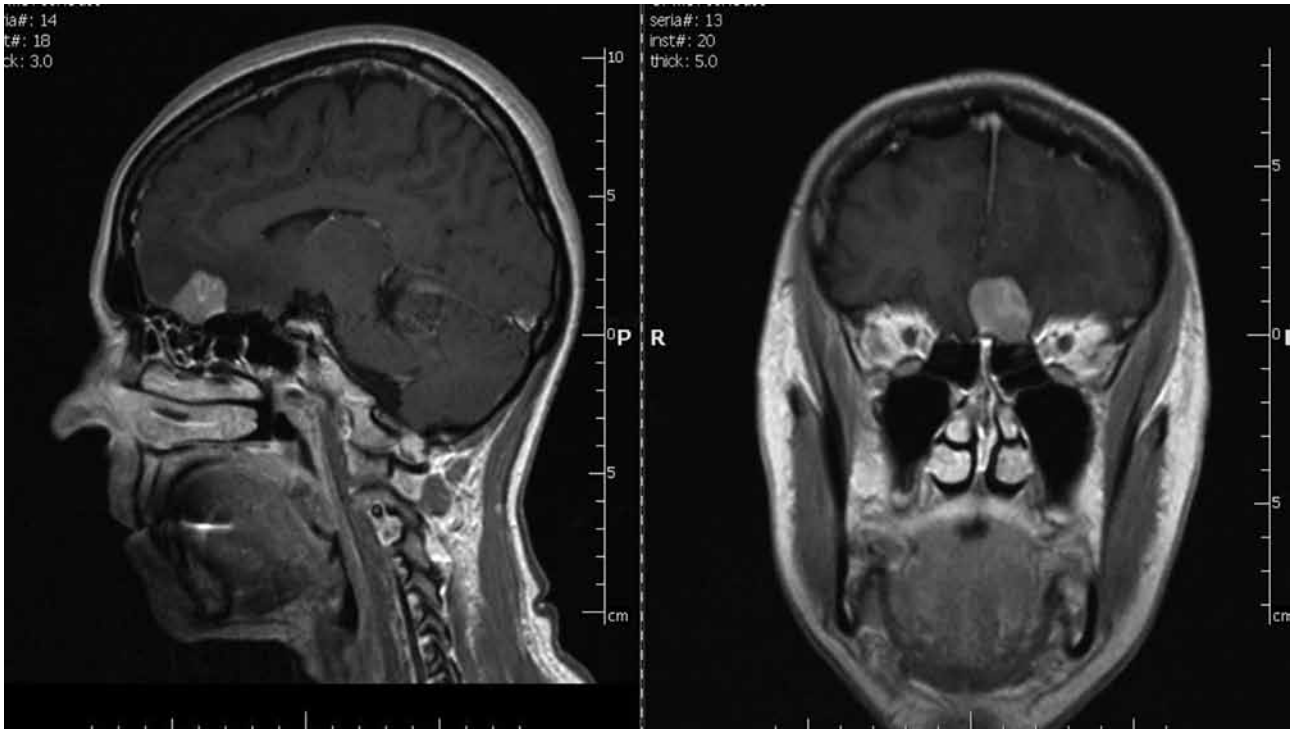
Rys. 8. Duży oponiak pterionalny (1/3 zewnętrznej prawego uskoku klinowego). Znaczny obrzęk, efekt masy z uciskiem rogu przedniego prawej komory bocznej i przemieszczeniem struktur linii środkowej. Obraz CT przed podaniem (po stronie prawej) i po podaniu kontrastu

D22S258, D22S268, D22S298, D22S303, D22S449, D22S609, D22S1150, D22S1163). Fragmenty DNA obejmujące sekwencje mikrosatelitarne powielano podczas reakcji łańcuchowej polimerazy (ang. *polymerase chain reaction*, PCR), którą przeprowadzano w sposób standardowy. Mieszanina reakcyjna o objętości 20 μ l zawierała: 50-100 ng matrycy DNA, 0,5 μ m każdego z dwóch starterów, 50 μ m dNTP, 1,5 mm $MgCl_2$ i 1 U Taq polimerazy (Promega). Po 5 minutach denaturacji

wstępnej w 94°C następowało 35 cykli amplifikacji złożonych z denaturacji w temperaturze 94°C przez 60 s, przyłączenia starterów (51-63°C przez 60 s) i wydłużania produktów reakcji (72°C przez 60 s). Temperatura topnienia była ustalana dla każdej pary starterów indywidualnie. W dalszej kolejności, by potwierdzić prawidłowość przebiegu reakcji PCR, jej produkty były rozdzielane za pomocą elektroforezy w 2% żelu agarozowym. Następnie, w celu wizualizacji wyników, przeprowadzano



Rys. 9. Oponiak okolicy siódła tureckiego, który wrasta do zatoki jamistej lewej, obejmując wewnątrzjamisty odcinek tętnicy szyjnej wewnętrznej. MRI, obraz zależny od czasu relaksacji podłużnej, po podaniu kontrastu, projekcje czołowa i strzałkowa



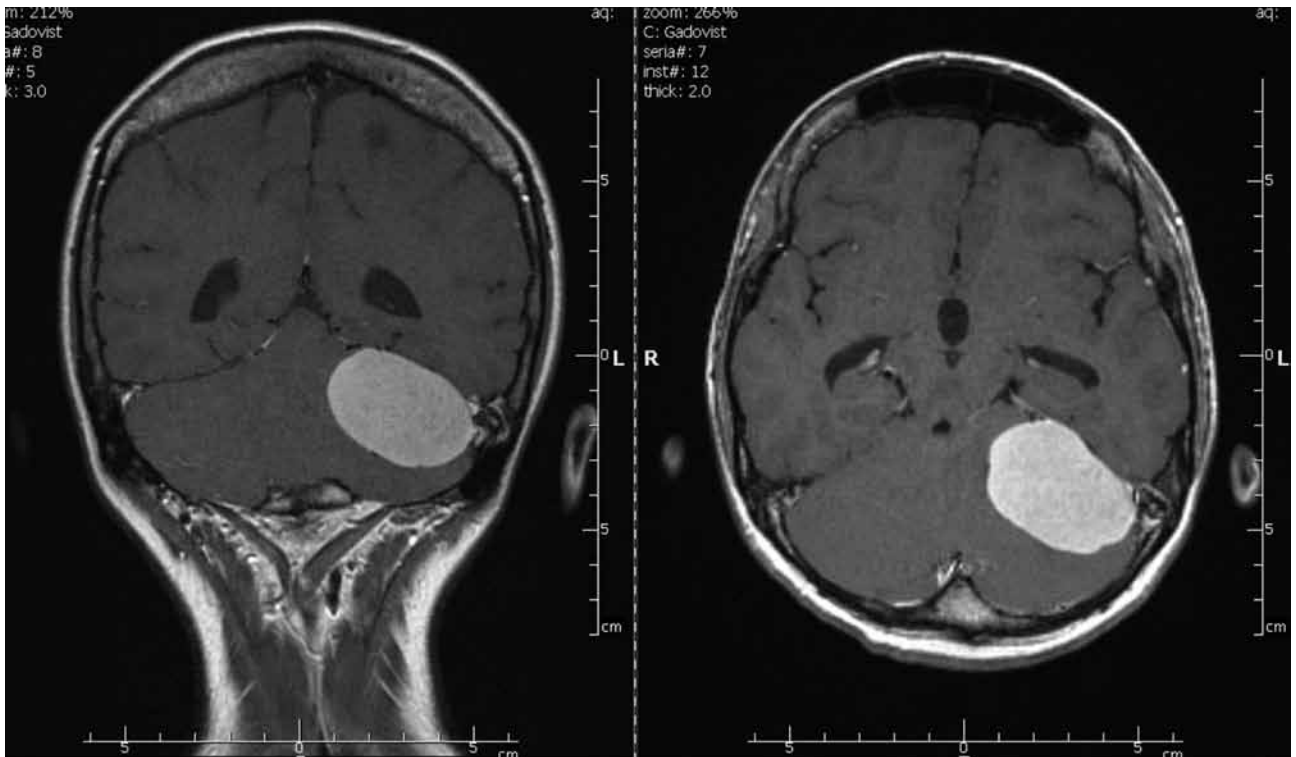
Rys. 10. Niewielki oponiak rynienki węchowej lewej. MRI, obraz zależny od czasu relaksacji podłużnej, po podaniu kontrastu, projekcje strzałkowa i czołowa

elektroforezę na 6% denaturującym żelu poliakrylamidowym zawierającym mocznik w stężeniu 7 mol/l. Ten ostatni rozdział elektroforetyczny wykonywano za pomocą automatycznego sekwenatora IR² firmy LiCor (LiCor Biotechnology, Lincoln, NE, USA).

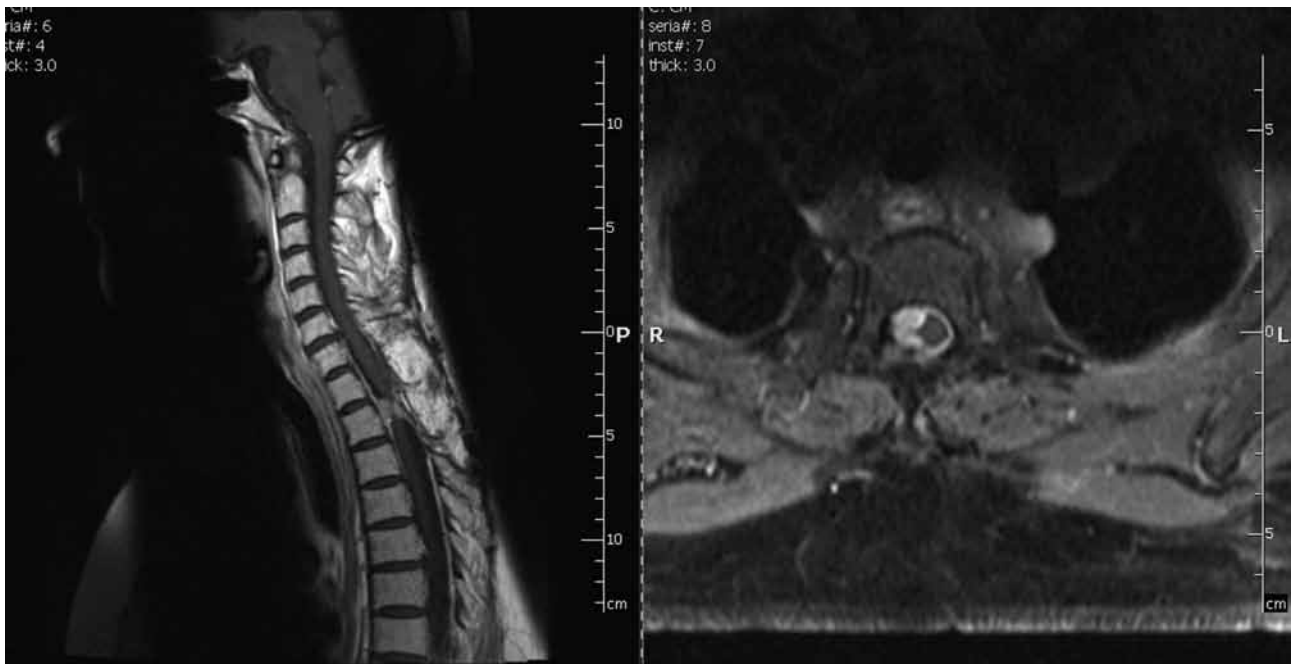
W efekcie uzyskiwano układ prążków odpowiadający allelom mikrosatelitarnym, co pozwalało na przeprowadzenie oceny utraty

heterozygotyczności (rys. 20-22). Warunkiem stwierdzenia LOH było obniżenie intensywności prążka w materiale nowotworowym o co najmniej 50% w stosunku do korespondującego prążka w materiale z leukocytów. Wszystkie próbki, w których wykryto LOH, badano ponownie w celu weryfikacji wyniku.

Przypadki, w których nie stwierdzono LOH, należały do jednej z dwu grup:



Rys. 11. Duży oponiak tylnej jamy wyrastający z namiotu mózdzku. MRI, obraz zależny od czasu relaksacji podłużnej, po podaniu kontrastu, projekcje czołowa i poprzeczna

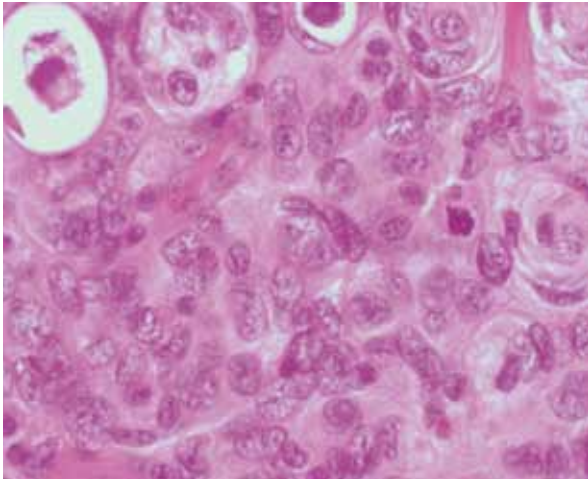


Rys. 12. Oponiak kanału kręgowego rosnący na wysokości trzonu Th2 i obejmujący rdzeń od strony prawej. MRI, obraz po podaniu kontrastu. Projekcja strzałkowa w sekwencji T_1 -zależnej oraz poprzeczna w sekwencji T_2 -zależnej

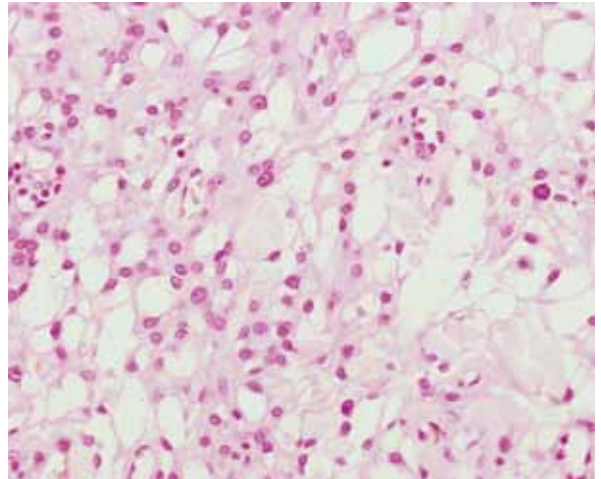
1. heterozygota – przypadki informatywne z zachowanymi dwoma allelami dla każdego *locus*, w materiale nowotworowym i leukocytarnym,
2. homozygota – przypadki nieinformatywne względem analizowanego *locus*.

ANALIZA STATYSTYCZNA

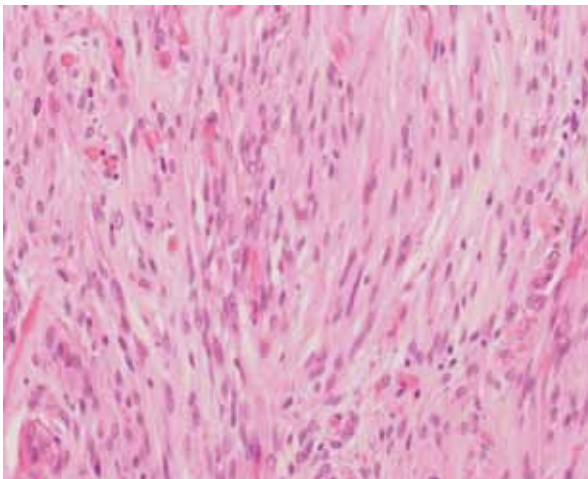
Z analizy wyłączono wszystkie przypadki, w których nie doszło do amplifikacji, jak również wszystkie przypadki nieinformatywne. Warunkiem uznania związku za znamienny statystycznie



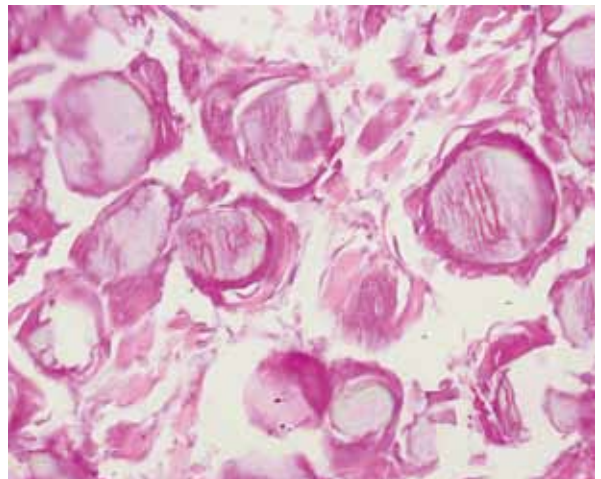
Rys. 13. Oponiak atypowy. Różna wielkość jąder komórkowych, wyraźnie widoczne jąderka i figury podziału



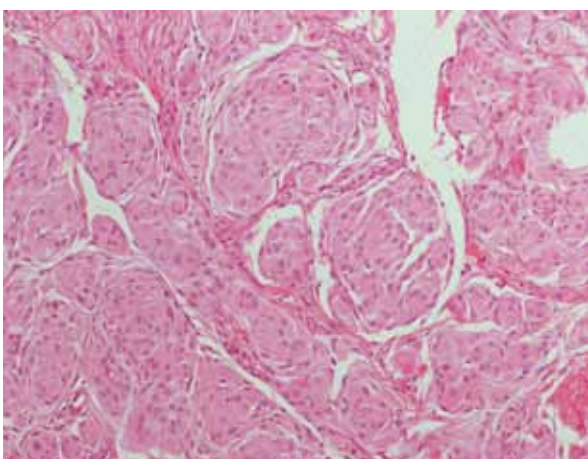
Rys. 16. Oponiak drobnotorbielkowy. Mikrotorbiele. Część komórek nowotworowych ma pająkowaty kształt. Zaznaczony polimorfizm jąder



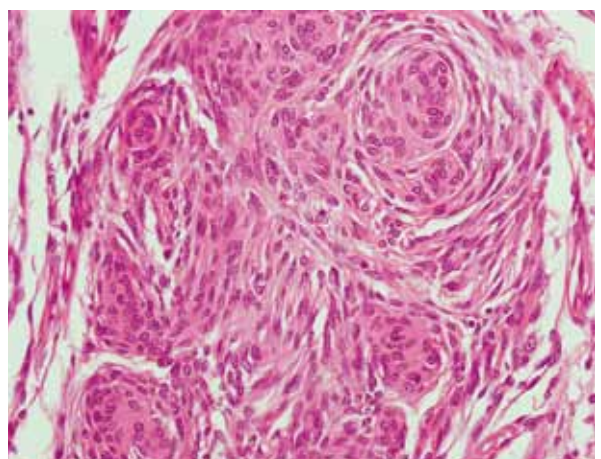
Rys. 14. Oponiak włóknisty. Pasmowaty układ komórek i wydłużonych jąder. Pasma kolagenu



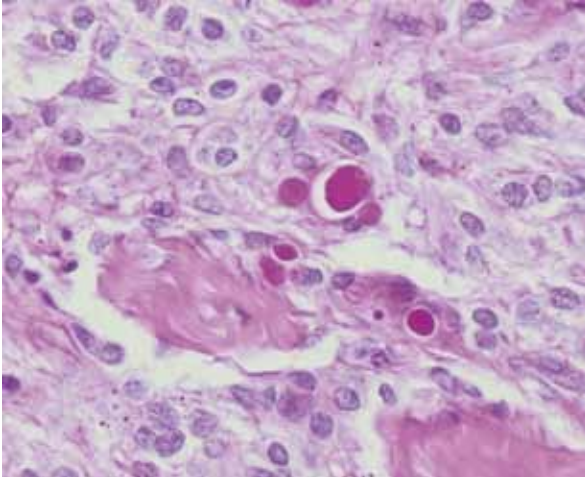
Rys. 17. Oponiak piaszczakowaty. Pomiedzy ciałami piaszczakowatymi widoczne są nieliczne komórki nowotworowe o wydłużonym kształcie



Rys. 15. Oponiak meningotelialny. Ugrupowania monomorficznych komórek o nieostrych granicach oddzielają wąskie pasma kolagenu. Jądra komórkowe są owalne, z niewielką zawartością chromatyny



Rys. 18. Oponiak przejściowy. Niewielkie pasmowate układy komórek. W niektórych jądrach widoczne są pseudoinkluzyje



Rys. 19. Oponiak wydzielniczy. W centrum pola widzenia w utkaniu nowotworu widoczne są ciała rzekomopiaszczakowate (barwienie PAS)

była wartość $p \leq 0,05$. W celu przeprowadzenia porównań wielokrotnych stosowano poprawkę Bonferroni. Związek obecności LOH z danymi klinicznymi analizowano metodą regresji logistycznej. W przypadku badania danych o niskiej wariancji, dla których nie było możliwości zastosowania analizy regresji, używano dwustronnego testu Fishera. Test U Manna-Whitneya znalazł zastosowanie przy ocenie zależności stanu LOH od wieku

chorego i stopnia złośliwości nowotworu. Wzajemne związki pomiędzy obecnościami LOH na poszczególnych chromosomach badano za pomocą analizy log-liniowej tabel liczości.

WYNIKI

ANALIZA LOH NA CHROMOSOMACH

1., 9., 10., 14., 18. I 22.

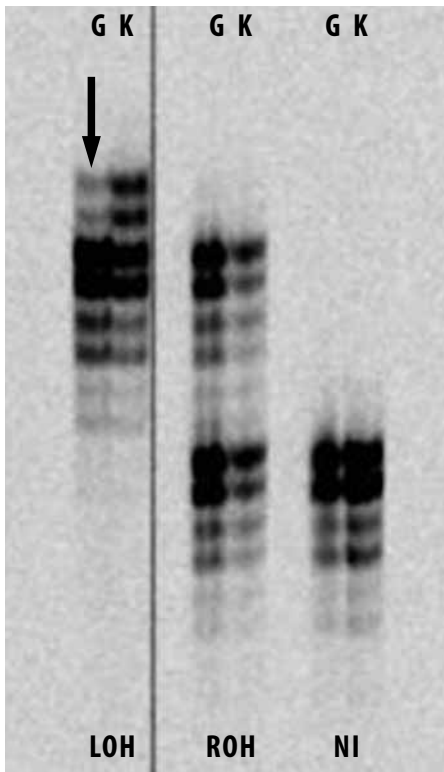
Delecję co najmniej jednego *locus* stwierdzono w przypadku 70 z 90 przebadanych oponiaków (78%). Na poszczególnych chromosomach odsetek przypadków LOH przedstawiał się następująco: chromosom 1. – 25 przypadków wykazujących LOH spośród 88 przypadków informatywnych, chromosom 9. – 3/78, chromosom 10. – 9/82, chromosom 14. – 9/70, chromosom 18. – 12/72 i chromosom 22. – 59/88.

ZWIĄZEK DELECJI NA CHROMOSOMACH

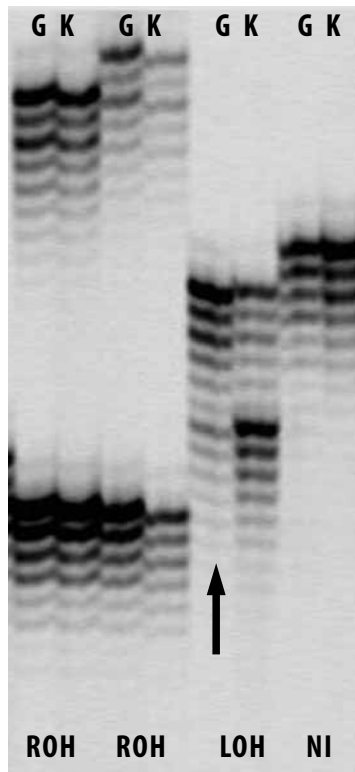
1., 9., 10., 14., 18. I 22. ZE STOPNIEM ZŁOŚLIWOŚCI OPONIAKA

Analiza statystyczna wykazała znamiennej statystycznie związek pomiędzy występowaniem delecji na chromosomach 14. i 18. a stopniem złośliwości WHO oponiaka. Okazało się, iż częstość LOH na tych chromosomach była wyższa w przypadkach oponiaków atypowych w porównaniu z oponiakami WHO I°.

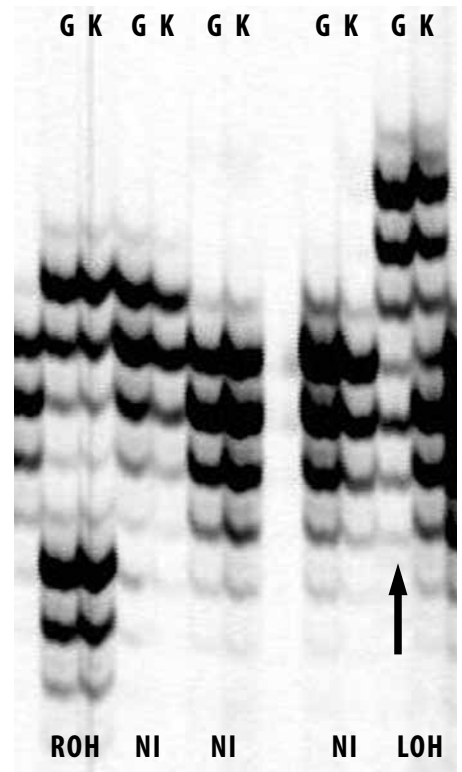
Chromosom 22. Marker D22S1163



Chromosom 18. Marker D18S1163



Chromosom 14. Marker D14S1010



Przykładowe wyniki analizy LOH: G – wynik analizy DNA wyizolowanego z guza, K – wynik analizy DNA wyizolowanego z krwi

Rys. 20-22. Przykładowe wyniki analizy LOH

Występowanie LOH na chromosomie 14. zaobserwowano w 5 z 57 oponiaków łagodnych i w 4 z 13 oponiaków WHO II°, co odpowiada różnicy częstości 9% vs 31%, $p=0,048$. Podobnie na chromosomie 18. LOH stwierdzono w 8 z 63 oponiaków WHO I° oraz w 4 z 9 oponiaków atypowych (13% vs 44%, $p=0,03$). Jak wynika powyższych danych, szansa, iż oponiak, w którym wykryto delecję na chromosomie 14., okaże się oponiakem atypowym, była blisko pięciokrotnie wyższa od szansy, iż będzie to oponiak łagodny (OR=4,6; 95% CI: 0,74-25,76). W grupie chorych z delecjami na chromosomie 18. prawdopodobieństwo rozwoju oponiaka atypowego przewyższało prawdopodobieństwo powstania oponiaka łagodnego 5,5-krotnie (OR=5,5; 95% CI: 0,87-31,22).

Co więcej, odnotowano także nieznacznie wyższą częstość występowania LOH na chromosomie 9. w oponiakach WHO II° ($p=0,06$). Ryzyko rozwoju oponiaka atypowego okazało się blisko 12-krotnie wyższe niż łagodnego (OR=11,64; 95% CI: 0,93-145,28), jednakowoż wynik ten okazał się tylko marginalnie istotny.

Delecje na chromosomach 1., 10. i 22. okazały się nie mieć związku ze stopniem histologicznej złośliwości nowotworów.

ZALEŻNOŚĆ DELECJI NA CHROMOSOMACH 1., 9., 10., 14., 18. I 22. OD HISTOLOGICZNEGO TYPU OPONIAKA

Wśród 90 zbadanych oponiaków rozpoznano 7 odmian histologicznych. Były to: oponiaki meningotelialne – 17 przypadków, włókniste – 14, przejściowe – 30, piaszczakowate – 7, mikrotrabielkowe – 4, wydzielnicze – 3 i atypowe – 15 przypadków.

Przeprowadzenie porównań wielokrotnych pomiędzy poszczególnymi typami histologicznymi oponiaków ujawniło, że częstość występowania LOH na chromosomie 22. była znacznie wyższa w oponiakach włóknistych niż w meningotelialnych i wynosiła 100% (13/13) vs 41% (7/17); $p=0,001$. Nie można było jednak obliczyć odnośnego ilorazu szans z powodu braku przypadków zachowania heterozygotyczności (ang. *retention of heterozygosity*, ROH) w grupie oponiaków włóknistych.

Ponadto częstość występowania LOH na chromosomie 22. była wyższa w oponiakach atypowych w porównaniu z meningotelialnymi (12/15 vs 7/17; $p=0,04$), z kolei w przypadku oponiaków przejściowych oraz piaszczakowatych była niższa niż w oponiakach włóknistych (19/29 vs 13/13; $p=0,02$ i 4/7 vs 13/13; $p=0,03$; odpowiednio). Podobnie w przypadku nowotworów wydzielniczych częstość LOH była niższa

w porównaniu z oponiakami włóknistymi (1/3 vs 13/13; $p=0,03$).

Z kolei wyższą częstość występowania delecji na chromosomie 10. odnotowano w przypadku oponiaków meningotelialnych w porównaniu z oponiakami przejściowymi (4/14 vs 1/27; $p=0,04$), jak również na chromosomie 14. w oponiakach atypowych w porównaniu z przejściowymi (4/13 vs 0/24; $p=0,01$). W przypadku chromosomu 18. wyższą częstość delecji zaobserwowano w nowotworach atypowych w porównaniu z meningotelialnymi i włóknistymi (4/9 vs 1/14; $p=0,04$ i 4/9 vs 0/12; $p=0,02$; odpowiednio), a także w oponiakach mikrotrabielkowych w porównaniu z włóknistymi (2/2 vs 0/12; $p=0,05$). Po uwzględnieniu poprawki Bonferroniego częstości delecji na chromosomie 22. okazały się istotnie różne tylko w przypadku oponiaków włóknistych i meningotelialnych. Rozkład występowania LOH na 22. chromosomie w różnych typach histologicznych oponiaków przedstawiono w tabeli 2.

Delecje na pozostałych chromosomach 1. i 19. nie wykazały znamiennej statystycznego związku z rodzajem oponiaka.

ZWIĄZEK LOKALIZACJI NOWOTWORU ZE STOPNIEM ZŁOŚLIWOŚCI OPONIAKA ORAZ PODTYPEM HISTOPATOLOGICZNYM

Na podstawie przeprowadzonych analiz nie wykazano żadnej zależności pomiędzy lokalizacją a stopniem złośliwości oponiaka wg WHO oraz podtypem histopatologicznym.

ZALEŻNOŚĆ DELECJI NA CHROMOSOMACH 1., 9., 10., 14., 18. I 22. OD ROZMIARÓW NOWOTWORU

Biorąc pod uwagę medianę średnicy guza ($M=4$ cm), przypadki podzielono na dwie grupy: chorych z oponiakami o wielkości do 4 cm włącznie i pacjentów z nowotworem o średnicy większej niż 4 cm. W toku analizy ustalono, iż jedynie obecność LOH na chromosomie 14. wykazywała znamienny statystycznie związek z rozmiarem oponiaka. Stwierdzono, iż delecja na chromosomie 14. wystąpiła w 2 na 46 przypadków oponiaków o średnicy do 4 cm (4%) i w 4 z 18 guzów większych (22%); $p=0,048$. Okazało się, że chorzy z oponiakami wykazującymi LOH na chromosomie 14. mają 6-krotnie wyższe ryzyko wzrostu oponiaka do rozmiaru ponad 4 cm (OR=6,3; 95% CI: 1,0-73,82).

Delecje na innych chromosomach nie wykazywały znamiennej statystycznie związku z wielkością oponiaków.

Chromosom 22.	Histopatologia						
	Meningotelialny	Włóknisty	Przejściowy	Piaszczakowaty	Mikrotrabielkowy	Wydzielniczy	Atypowy
ROH*	10/17	0/13	10/29	3/7	1/4	2/3	3/15
LOH**	7/17	13/13	19/29	4/7	3/4	1/3	12/15

* Liczba oponiaków z zachowaną heterozygotycznością (ROH)/wszystkie informatywne przypadki.
** Liczba oponiaków z utratą heterozygotyczności (LOH)/wszystkie informatywne przypadki.

Tabela 2. Występowanie LOH na chromosomie 22. w różnych podtypach histologicznych oponiaków

ZWIĄZEK DELECJI NA CHROMOSOMACH 1., 9., 10., 14., 18. I 22. Z UMIEJSCOWIENIEM NOWOTWORU

Podobnie jak w przypadku typów histologicznych, związek pomiędzy występowaniem LOH a umiejscowieniem nowotworu okazał się znamienno statystycznie jedynie w przypadku chromosomu 22. Wykonując porównania wielokrotne pomiędzy usytuowaniami nowotworów, stwierdzono, iż częstość występowania LOH w oponiakach położonych na podstawie czaszki była znamiennej mniejsza niż w oponiakach przystrzałkowych [13/31 (42%) vs 19/21 (90%); $p=0,0004$]. Zatem u chorych z LOH na chromosomie 22. ryzyko rozwoju oponiaka na podstawie czaszki było 13 razy mniejsze od ryzyka powstania oponiaka przystrzałkowego (OR=0,076; 95% CI: 0,01-0,36). Co istotne, częstość występowania LOH w nowotworach podstawy czaszki była również niższa w porównaniu z oponiakami tylnego dołu czaszki i oponiakami kanału kręgowego (odpowiednio $p=0,04$ i $p=0,08$). Niemniej jednak mała liczba chorych z dwiema ostatnimi lokalizacjami oponiaków sprawiła, że po zastosowaniu poprawki Bonferroniego związki te nie osiągnęły znamienności statystycznej. Dane te przedstawiono w tabeli 3.

Następnie, w celu określenia, czy oponiaki położone poza przednim dołem nie wykazują delecji na chromosomie 22., guzy podstawy podzielono na trzy grupy: oponiaki podstawy przedniego, środkowego i tylnego dołu czaszki. Analiza ujawniła, że jedynie oponiaki usytuowane w przednim dole czaszki wykazują statystycznie istotnie mniej delecji na chromosomie 22. w porównaniu z pozostałymi nowotworami ($p=0,004$). Ryzyko rozwoju oponiaka w okolicy przedniego dołu podstawy u pacjentów z delecjami na chromosomie 22. jest 5 razy niższe w porównaniu z rozwojem oponiaków w pozostałych lokalizacjach (OR=0,2; 95% CI: 0,05-0,67).

OCENA ZWIĄZKU POMIĘDZY WIELKOŚCIĄ A POŁOŻENIEM NOWOTWORU

Analiza wykazała, że istnieje związek pomiędzy rozmiarem guza a jego lokalizacją. Na podstawie porównań wielokrotnych stwierdzono, że nowotwory o średnicy większej niż 4 cm występują częściej w przypadku guzów tylnego dołu podstawy w porównaniu z guzami usytuowanymi w przednim dole oraz w kręgosłupie (odpowiednio: 3/17 vs 5/5; $p=0,0021$, 0/6 vs 5/5; $p=0,0022$). Obliczenie ilorazu szans nie było możliwe z powodu braku przypadków w grupie guzów o średnicy <4 cm

tylnego dołu podstawy oraz braku przypadków nowotworów o średnicy >4 cm zlokalizowanych w kręgosłupie.

Ponadto częstość występowania oponiaków o średnicy ≤4 cm była wyższa w przypadku guzów tylnej jamy, przystrzałkowych oraz sklepiści w porównaniu z guzami tylnego dołu podstawy (odpowiednio: 4/4 vs 0/5; $p=0,008$, 13/23 vs 0/5; $p=0,015$ i 15/23 vs 0/5; $p=0,007$). Jednakże po zastosowaniu poprawki Bonferroniego związki te nie osiągnęły poziomu istotności statystycznej.

ZWIĄZEK DELECJI NA CHROMOSOMACH 1., 9., 10., 14., 18. I 22. Z WYSTĘPOWANIEM WZNOWY, NACIEKAJĄCYM WZROSTEM ORAZ WIEKIEM I PŁCIĄ CHORYCH

Nie udało się stwierdzić statystycznie znamiennej zależności pomiędzy występowaniem LOH na przebadanych chromosomach a wznową nowotworu. Podobnie nie wykazano istotnej zależności pomiędzy obecnością LOH a naciekającym wzrostem oponiaka.

Nie udało się także dowieść związku pomiędzy stanem LOH a wiekiem lub płcią chorych.

WZAJEMNE ZWIĄZKI POMIĘDZY OBECNOŚCIĄ LOH NA CHROMOSOMACH 1., 10., 14., 18. I 22.

W określeniu wzajemnych związków pomiędzy obecnością LOH na badanych chromosomach nie uwzględniono chromosomu 9., z powodu małej częstości występowania LOH na tym chromosomie, co uniemożliwiło przeprowadzenie analizy z jego udziałem. Wyniki analizy kombinacji chromosomów zbadanych pod kątem wzajemnych związków przedstawiono w tabeli 4. Spośród wszystkich możliwych kombinacji zbadanych chromosomów jedyną statystycznie znamiennej zależność wykazał związek pomiędzy obecnością LOH na chromosomach 10. i 14. ($p=0,01$). Aż 84% ze wszystkich przypadków zbadanych z powodem oponiaków ($p<0,0001$; z-test dla proporcji) miało tę samą konfigurację LOH/ROH na obydwu omawianych chromosomach. Było to 51 chorych z układem ROH/ROH oraz 3 z konfiguracją LOH/LOH. Ponadto nie znaleziono żadnych znamiennych statystycznie związków pomiędzy występowaniem LOH na poszczególnych chromosomach.

Kombinację LOH na chromosomach 10. i 14. poddano dalszej analizie w celu ustalenia jej związku z danymi klinicznymi. Okazało się, że obecność układu LOH/LOH na tych

Chromosom 22.	Umiejscowienie				
	Podstawa	Sklepiście	Przystrzałkowe	Tylna jama	Kanał kręgowy
ROH*	18/31	7/20	2/21	0/4	1/6
LOH**	13/31	13/20	19/21	4/4	5/6

* Liczba oponiaków z zachowaną heterozygotycznością (ROH)/wszystkie przypadki informatywne.
 ** Liczba oponiaków z utratą heterozygotyczności (LOH)/wszystkie przypadki informatywne.

Tabela 3. Związek umiejscowienia oponiaka ze statusem LOH/ROH na chromosomie 22.

	Chromosom 1.	Chromosom 9.	Chromosom 10.	Chromosom 14.	Chromosom 18.	Chromosom 22.
Chromosom 1.	---	ND	0,8246	0,5524	0,2598	0,7778
Chromosom 9.	---	---	ND	ND	ND	ND
Chromosom 10.	---	---	---	0,0126	0,9515	0,4048
Chromosom 14.	---	---	---	---	0,4766	0,6610
Chromosom 18.	---	---	---	---	---	0,3440

Poziomy istotności współlistnienia LOH na każdym zbadanym chromosomie ocenione za pomocą analizy log-liniowej tabel licznosci; pobrubioną czcionką oznaczono związek istotny statystycznie ($p < 0,05$); ND – nie dotyczy.

Tabela 4. Współlistnienie LOH na chromosomach 1., 9., 10., 14., 18. i 22.

chromosomach była związana z wielkością oponiaka, jednak ów związek nie osiągnął granicy znamienności statystycznej (0% – w guzach o rozmiarze nie większym niż 4 cm vs 11% w większych oponiakach, $p=0,08$). Nie wykazano żadnej statystycznie istotnej zależności pomiędzy współlistnieniem LOH na chromosomach 10. i 14. a innymi zmiennymi.

ZWIĄZEK POMIĘDZY WIEKIEM I PŁCIĄ CHORYCH A STOPNIEM ZŁOŚLIWOŚCI OPONIAKA

Nie stwierdzono żadnej zależności pomiędzy wiekiem chorych a stopniem złośliwości oponiaka wg WHO. Z drugiej strony, badając zależność pomiędzy płcią chorych a stopniem złośliwości nowotworu, zaobserwowano nieznacznie większą częstość występowania oponiaków WHO II° u mężczyzn – 8/29 (28%) w porównaniu z kobietami – 7/61 (11%); $p=0,065$. U chorych płci męskiej ryzyko rozwoju oponiaka atypowego było 2,9 razy większe niż oponiaka WHO I°. Niemniej jednak ta prawidłowość nie osiągnęła granicy znamienności statystycznej (OR=2,9; 95% CI: 0,93-9,27).

OCENA ZWIĄZKU POMIĘDZY POŁOŻENIEM A WZNOWĄ NOWOTWORU

W przypadku nowotworów środkowego dołu czaszki wznowy występują częściej w porównaniu z guzami przedniego dołu podstawy, guzami przystrzałkowymi, sklepistości oraz kręgosłupa (odpowiednio: $p=0,01$, $p=0,06$, $p=0,005$ i $p=0,044$). Ze względu na małą liczbę przypadków dających wznowy, po uwzględnieniu poprawki Bonferroniego analizowane związki nie osiągnęły poziomu istotności statystycznej.

OCENA ZWIĄZKU POMIĘDZY POŁOŻENIEM NOWOTWORU A DOSZCZĘTNOŚCIĄ RESEKCJI WYRAŻONĄ SKALĄ SIMPSONA

Przeprowadzenie porównań wielokrotnych pomiędzy oponiakami o różnym umiejscowieniu ujawniło, iż stopień resekcji oponiaka wg skali Simpsona zależy od jego położenia. W guzach podstawy częstość występowania nowotworów, w których osiągnięto I stopień resekcji, była mniejsza w porównaniu z guzami rozwijającymi się w pozostałych lokalizacjach. Resekcje III i IV stopnia miały miejsce przy tym położeniu nowotworu

częściej. Szansa, że oponiak podstawy zostanie doszczętnie usunięty, była 10-krotnie mniejsza w porównaniu z szansą resekcji guza stopnia IV (OR=0,1; 95% CI: 0,001-1).

OMÓWIENIE

W niniejszej pracy przeprowadzono analizę obecności LOH na chromosomach 1., 9., 10., 14., 18. i 22. w serii 90 oponiaków, wśród których znalazło się 75 nowotworów WHO I° i 15 WHO II°. Pracę podjęto w celu identyfikacji ewentualnych związków pomiędzy występowaniem zaburzeń chromosomalnych a danymi klinicznymi.

Stając przed zadaniem oceny utraty materiału genetycznego, mamy do wyboru kilka metod. Do najczęściej stosowanych należą analiza LOH oraz FISH (ang. *fluorescent in situ hybridization*). Pierwsza z nich jest łatwa w interpretacji, a do tego czuła i niezawodna – wykrywa wszystkie przypadki utraty alleli, w tym rekombinację mitotyczną⁽¹⁵⁹⁾. W materiale kontrolnym pochodzącym z leukocytów krwi obwodowej otrzymuje się prawidłowy układ prążków wyrażony określoną liczbą tandemowych powtórzeń DNA umiejscowionych w danym *locus*. Natomiast jeśli w rozwoju nowotworu ma miejsce delecja jednego z alleli w diploidalnej komórce, uwidacznia się to w toku elektroforezy na żelu poliakrylamidowym jako utrata lub zmniejszenie intensywności względnej prążków odpowiadających określonemu produktowi DNA. Wadą tej metody jest konieczność posiadania próbki krwi oraz wieloetapowość, która sprawia, że jest ona pracochłonna. Kolejne stadia to izolacja DNA, PCR i w końcu rozdział elektroforetyczny⁽¹⁵⁹⁾. Z kolei zaletą analizy FISH jest to, iż umożliwia ona obserwacje *in situ* i nie wymaga próbki krwi. Jednak jest to metoda mniej czuła – nie wykrywa zatem wszystkich przypadków utraty alleli, co więcej, jej optymalizacja jest znacznie bardziej skomplikowana w porównaniu z PCR⁽¹⁶⁰⁾. Inną stosowaną metodą jest porównawcza hybrydyzacja genomowa – CGH (ang. *comparative genomic hybridization*). Fakt mniejszej czułości w porównaniu z LOH czy FISH sprawia, że bywa rzadko stosowana. Różnicę w czułości omawianych metod ilustrują współczynniki korelacji wykrywania przez nie delekcji w obrębie 1p i 19q (badania wykonywano w skąpodrzewiakach). Dla LOH i FISH wynoszą one odpowiednio 0,98 (1p) i 0,87 (19q), dla LOH i CGH: 0,79 i 0,60, zaś dla FISH i CGH: 0,79 i 0,53. Kolejnym czynnikiem ograniczającym rutynowe wykorzystanie FISH i CGH jest fakt, iż obie metody są bardzo pracochłonne⁽¹⁶¹⁾.

Innym sposobem oceny utraty materiału genetycznego jest ilościowa technika QPCR (ang. *quantitative PCR*), zaś jej modyfikacją – QuMA (ang. *quantitative microsatellite analysis*). Podobnie jak w przypadku analizy LOH, za pomocą QuMA można wykrywać małe delecje. Zatem obydwie te metody umożliwiają identyfikację w obrębie chromosomów regionów, w których utrata materiału genetycznego w nowotworach może wskazywać na obecność domniemych genów supresorowych. Istotnym ograniczeniem techniki QuMA jest wymagana ilość DNA, którą jest nie mniejsza niż 15 ng. Wyklucza to zastosowanie tej metody między innymi w przypadku, gdy preparat ma wiele lat oraz kiedy materiał pochodzi z bloczków parafinowych. Wówczas korzystniejsze wydaje się posłużenie analizą FISH. QuMA, podobnie jak FISH, nie wykrywa uszkodzeń genetycznych, które nie prowadzą do zmiany liczby kopii, szczególnie w przypadku duplikacji pozostałego allelu⁽¹⁶²⁾.

Wziąwszy pod uwagę wszystkie omówione argumenty, dla potrzeb tego badania zdecydowano się na użycie analizy LOH.

Wykazano zależność stopnia złośliwości oponiaka od częstości występowania LOH na chromosomach 9., 14. i 18. Zaburzenia żadnego z innych przebadanych chromosomów nie miały związku ze stopniem WHO oponiaka. Taki stan jest zgodny z danymi z piśmiennictwa, według których delecje na chromosomach 9., 14. i 18. są częste w oponiakach atypowych^(37,92). Fragment 9p21.3 zawiera trzy geny supresorowe: *CDKN2A*, *CDKN2B* i *p14ARF*, odgrywające kluczową rolę w szlaku sygnałowym pRB/p53. Delecję 9p stwierdzano w 38% oponiaków anaplastycznych, 18% atypowych i jedynie w 5% WHO I^o⁽⁷⁹⁾. Z kolei wg Goutagny i wsp. utrata *CDKN2A/CDKN2B* jest najczęstszą nieprawidłowością towarzyszącą progresji oponiaków WHO II^o do WHO III^o⁽⁸⁰⁾. Istnieją sugestie dotyczące istotnej roli *DAL-1* (18p11.32), którego produkt – białko 4.1B – jest aktywatorem szlaku JNK w progresji oponiaków⁽⁶⁸⁾. Według danych z literatury ważnymi genami supresorowymi położonymi na ramieniu długim chromosomu 14. są *MEG3* i *NRG2*. Pierwszy z nich (14q32) transaktywuje *TP53*, a RNA *MEG3* wykazuje aktywność antyproliferacyjną. Jego obniżoną ekspresję obserwowano w oponiakach wyższego stopnia WHO⁽¹⁵¹⁾. Podobnie obniżona ekspresja *NRG2* jest stałą cechą oponiaków anaplastycznych oraz agresywnych oponiaków atypowych⁽⁸²⁾, a także oponiaków nawrotowych⁽⁸³⁾. Warto podkreślić, iż donoszono, że obecność delecji na ramieniu długim chromosomu 14. zwiększa również ryzyko wznowy u chorych z oponiakami łagodnymi WHO I^o⁽¹⁶³⁾. W prezentowanym materiale nie udało się jednak wykazać takiej zależności, co może mieć związek z niewielką liczbą obserwowanych przypadków wznowy (9 na 75 chorych z oponiakami łagodnymi, 12%), z których tylko w 7 udało się przeprowadzić skuteczne badanie chromosomu 14. Z drugiej strony delecja na chromosomie 14. w sposób znamieny wpływała na wielkość nowotworu, gdyż jak się okazało, chorzy z LOH 14q wykazywali 6-krotnie większe prawdopodobieństwo, iż ich oponiak przekroczy rozmiar 4 cm. Ponadto ujawniono zależność pomiędzy współlistnieniem delecji na chromosomach 10. i 14. a wielkością oponiaka. Jak dotąd brak jest publikacji stwierdzających istnienie związku pomiędzy LOH na chromosomie 14., jak również współlistniących

LOH na chromosomach 10. i 14. a wielkością oponiaka, zatem przedstawione w niniejszej pracy dane nie mogą być porównane z innymi pracami. Niemniej jednak, jeśli wziąć pod uwagę fakt, iż wyniki dla LOH na chromosomie 14. osiągnęły granice znamienności statystycznej ($p < 0,05$), gdy takiej sytuacji nie odnotowano ani dla LOH na chromosomie 10., ani też dla współlistniących LOH na chromosomach 14. i 10. ($p = 0,08$), należy przypuszczać, że ta ostatnia zależność wynika przede wszystkim z silnego związku między delecją na chromosomie 14. a rozmiarem oponiaka. Rozstrzygnięcie istotności związku między współlistnieniem LOH na chromosomach 10. i 14. a wielkością oponiaka wymagać będzie dalszych badań. Znaczenie chromosomu 10. w patogenezie oponiaków jest mało zbadane. Genami o niepotwierdzonej roli są tu *PTEN*, *MXII* i *DMBT1*⁽²⁹⁾.

Niejasna pozostaje kliniczna interpretacja związku LOH 14. z wielkością oponiaka. W istocie można by sądzić, iż każdy oponiak pozostawiony bez leczenia przez odpowiednio długi czas urośnie do dużych rozmiarów. Stąd rozpoznanie u chorego dużego nowotworu może być po prostu pochodną późno postawionej diagnozy. A zatem czy miałyby to oznaczać, że oponiaki z LOH 14. cechują się długim okresem bezobjawowym? Jak wiadomo z piśmiennictwa, szczególnie długim, bo sięgającym 4,5 roku, okresem wzrostu do chwili rozpoznania charakteryzują się oponiaki styku stoku i części skalistej kości skroniowej⁽¹⁶⁾. Niemniej jednak nie udało się wykazać związku pomiędzy obecnością delecji na chromosomie 14. a umiejscowieniem nowotworu. Z drugiej strony potwierdzono, iż oponiaki wyrastające na podstawie tylnego dołu czaszki osiągają znacząco większe rozmiary w chwili rozpoznania w porównaniu z oponiakami w innych lokalizacjach.

Innym możliwym wyjaśnieniem znacząco większych rozmiarów oponiaków z LOH 14. mogłaby być hipoteza, iż nowotwory te charakteryzuje bardzo szybki wzrost. Takie wytłumaczenie wydaje się mniej prawdopodobne, albowiem szybko rosnące nowotwory wewnątrzczaszkowe z większym prawdopodobieństwem wywołują niepokojące objawy kliniczne. Z drugiej strony LOH 14. wykazywał związek z wyższym stopniem WHO. Potwierdzenie związku LOH 14. z wielkością oponiaka i wyjaśnienie stojących za nim mechanizmów wymagać będzie dalszych badań.

Za najczęściej występującą anomalię chromosomalną w oponiakach uważa się obecność LOH na chromosomie 22. Zostało to w pełni potwierdzone w prezentowanym badaniu, albowiem zmianę tę wykazano w 66% przypadków. Zaobserwowano przy tym związek pomiędzy obecnością LOH na chromosomie 22. a typem histologicznym oponiaka. Delecję tę wykrywano istotnie częściej w oponiakach włóknistych niż w odmianie meningotelialnej, co jest zgodne z danymi opublikowanymi uprzednio między innymi przez Krosa i wsp.⁽⁵⁰⁾ Co więcej, ujawniono także zależność pomiędzy obecnością LOH na 22. chromosomie a umiejscowieniem oponiaka. W prezentowanym materiale oponiaki podstawy czaszki odznaczały się istotnie mniejszą częstością występowania LOH na chromosomie 22. w porównaniu z nowotworami przystrzałkowymi. Podobny trend, choć niewykazujący znamienności

statystycznej, stwierdzono, porównując oponiaki rosnące na podstawie czaszki z oponiakami położonymi w tylnej jamie oraz usytuowanymi w kanale kręgowym. Podobne spostrzeżenia poczynili Kros i wsp.⁽⁵⁰⁾, dowodząc, iż oponiaki podstawy przedniego dołu czaszki charakteryzują się silną tendencją do utrzymania heterozygotyczności na chromosomie 22. W materiale tych autorów większość oponiaków podstawy przedniego dołu czaszki nie wykazywała LOH na chromosomie 22., zaś guzy zlokalizowane na sklepiści, jak również te przylegające do sierpa mózgu lub namiotu mózdzku miały delecję na ramieniu długim chromosomu 22.⁽⁵⁰⁾ Dlatego też przeprowadzono dalszą analizę, dzieląc grupę oponiaków podstawy na trzy podgrupy (wyrastające z przedniego, środkowego i tylnego dołu czaszki) i potwierdzono, że jedynie oponiaki umiejscowione w przednim dole czaszki wykazują statystycznie istotnie mniej delecji na chromosomie 22. w porównaniu z pozostałymi nowotworami. Wyniki te potwierdzają najprawdopodobniej występujące cytogenetyczne zróżnicowanie genetyki różnych typów oponiaków łagodnych. Niedobór merliny kodowanej przez położony na ramieniu długim chromosomu 22. *NF2* może prowadzić do zmiany kształtu komórki z fenotypu nabłonkowego na mezenchymalny⁽⁴⁷⁾ i destabilizować połączenia międzykomórkowe^(51,52). Istota związku ROH 22. z usytuowaniem oponiaka w przednim dole czaszki jest niejasna.

Większość oponiaków to nowotwory łagodne, a częstość ich występowania rośnie z wiekiem. Rozpoznawane są częściej u kobiet, choć odmiany o wyższych stopniach złośliwości obserwuje się nieco częściej u mężczyzn^(164,165).

Znalazło to odzwierciedlenie w przedstawianym materiale, ponieważ częstość występowania oponiaków łagodnych była dwukrotnie wyższa u kobiet niż u mężczyzn (72% vs 28%), podczas gdy u chorych płci męskiej ryzyko rozwoju oponiaka atypowego było 2,9 razy wyższe od ryzyka rozwoju guza łagodnego.

Według danych z piśmiennictwa delecja na ramieniu krótkim chromosomu 1. jest drugą pod względem częstości nieprawidłowością chromosomalną obserwowaną w oponiakach⁽¹⁴⁰⁾. Choć znalazło to potwierdzenie również w przedstawianym materiale, to nie udało się wykazać żadnego związku LOH 1p z danymi klinicznymi. Warto jednak przypomnieć, iż według danych z literatury istotną rolę w patogenezie oponiaków może odgrywać inaktywacja genów umiejscowionych na ramieniu krótkim chromosomu 1. poprzez hipermetylację. Zatem zarówno przy obecności, jak i przy braku delecji 1p decydujące znaczenie mogą mieć zmiany epigenetyczne^(29,106,150).

Spośród wszystkich możliwych kombinacji zbadanych chromosomów jedyną statystycznie znamieną zależnością okazał się związek pomiędzy obecnością LOH na chromosomach 10. i 14., przy czym 84% ze wszystkich tych przypadków miało konfigurację LOH/LOH na obu omawianych chromosomach. W toku dalszej analizy usiłowano ustalić związek tej kombinacji z danymi klinicznymi. Okazało się, iż jest ona związana z wielkością oponiaka, lecz w sposób nieosiągający granicy znamienności statystycznej. Podobne spostrzeżenia nie były do tej pory publikowane.

W analizowanym materiale wznowy oponiaków środkowego dołu czaszki występowały częściej w porównaniu z nowotworami

o innych umiejscowieniach (choć ze względu na małą liczbę przypadków dających wznowy po uwzględnieniu poprawki Bonferroniego analizowane związki nie osiągnęły poziomu istotności statystycznej). Jest to zrozumiałe, gdy weźmie się pod uwagę warunki anatomiczne w tej okolicy. Nie sprzyjają one usunięciu nowotworu wraz z oponą, co więcej, często operator zmuszony jest powstrzymać się nawet od jej koagulacji, jak na przykład w oponiakach mających związek z zatoką jamistą. Porównania wielokrotne pomiędzy oponiakami o różnej lokalizacji potwierdziły znany fakt, że stopień resekcji oponiaka wg skali Simpsona zależy od jego położenia, a doszczętne usunięcie jest szczególnie trudne w oponiakach podstawy czaszki.

WNIOSKI

1. Delecje na chromosomach 9., 10., 14., 18. i 22. mogą być związane z patogenezą i progresją oponiaków.
2. Najczęściej występujące delecje to LOH 22., a w następnej kolejności LOH 1., choć w przypadku chromosomu 1. nie udało się wykazać związku statusu LOH z cechami klinicznymi oponiaka.
3. Istnieją dowody na cytogenetyczne zróżnicowanie genetyki różnych typów oponiaków. Występuje silny związek pomiędzy zmianami na chromosomie 22. a podtypem histologicznym nowotworu oraz jego umiejscowieniem. LOH na chromosomie 22. jest znamienne częstszy w oponiakach włóknistych niż w meningotelialnych. Częstość LOH 22. w guzach podstawy czaszki jest znacząco mniejsza w porównaniu z oponiakami przystrzałkowymi. Ponadto obecność delecji na chromosomach 14. i 18. jest w istotny sposób związana ze stopniem WHO oponiaków.
4. LOH na chromosomie 14. okazał się znamienne statystycznie związany z rozmiarem oponiaka. Istota tego związku jest niejasna i wymaga dalszych badań.
5. Badanie wzajemnych związków pomiędzy obecnością LOH na różnych chromosomach wykazało, że jedyną statystycznie znamieną zależnością był związek pomiędzy obecnością LOH na chromosomach 10. i 14. Nie udało się natomiast udowodnić zależności tego związku od cech klinicznych.

PIŚMIENNICTWO:

BIBLIOGRAPHY:

1. Riemenschneider M.J., Perry A., Reifenberger G.: Histological classification and molecular genetics of meningiomas. *Lancet Neurol.* 2006; 5: 1045-1054.
2. Rohringer M., Sutherland G.R., Louw D.F., Sima A.A.: Incidence and clinicopathological features of meningioma. *J. Neurosurg.* 1989; 71: 665-672.
3. Yee G., Rycroft R., Phillips C. i wsp.: 2009-2010 CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in Eighteen States in 2002-2006. Central Brain Tumor Registry of the United States, Hinsdale, IL, 2009.
4. Jääskeläinen J., Haltia M., Laasonen E. i wsp.: The growth rate of intracranial meningiomas and its relation to histology. An analysis of 43 patients. *Surg. Neurol.* 1985; 24: 165-172.

5. Marosi C., Hassler M., Roessler K. i wsp.: Meningioma. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* 2008; 67: 153-171.
6. Cushing H., Eisenhardt I.: Meningiomas. Their Classification, Regional Behavior, Life History and Surgical End Results. Charles C. Thomas, Springfield 1938.
7. Rachlin J.R., Rosenblum M.I.: Etiology and biology of meningiomas. W: Al-Mefty O. (red.): Meningiomas. Raven Press, New York 1991.
8. Simon M., Boström J.P., Hartmann C.: Molecular genetics of meningiomas: from basic research to potential clinical applications. *Neurosurgery* 2007; 60: 787-798.
9. Jaskólski D.J., Papierz W., Rieske P. i wsp.: Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego w świetle klasyfikacji WHO 2000 (część druga). *Aktualn. Neurol.* 2002; 4: 287-336.
10. Zawirski M., Tybor K. (red.): Oponiaki – patologia, diagnostyka i leczenie chirurgiczne. *Annales Academiae Medicae Lodzianensis, Łódź* 2001; 42 (2).
11. Jaskólski D.J., Papierz W., Biernat W., Liberski P.P.: Nowotwory ośrodkowego układu nerwowego. W: Kozubski W., Liberski P.P. (red.): Choroby układu nerwowego. PZWL, Warszawa 2004.
12. Jaskólski D.J.: Ogólne objawy kliniczne w nowotworach ośrodkowego układu nerwowego. W: Liberski P.P., Kozubski W., Biernat W., Kordek R. (red.): *Neuroonkologia kliniczna*. Czelej, Lublin 2011.
13. Saleman M.: Malignant meningiomas. W: Al-Mefty O. (red.): Meningiomas. Raven Press, New York 1991.
14. Thomas H.G., Dolman C.I., Berry K.: Malignant meningioma: clinical and pathological features. *J. Neurosurg.* 1981; 55: 929-934.
15. Niiro M., Yatsushiro K., Nakamura K. i wsp.: Natural history of elderly patients with asymptomatic meningiomas. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2000; 68: 25-28.
16. Bricolo A.P., Turazzi S., Talacchi A., Cristofori L.: Microsurgical removal of petroclival meningiomas: a report of 33 patients. *Neurosurgery* 1992; 31: 813-828.
17. Murtagh R., Linden C.: Neuroimaging of intracranial meningiomas. *Neurosurg. Clin. N. Am.* 1994; 5: 217-233.
18. Simpson D.: The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 1957; 20: 22-39.
19. Jääskeläinen J.: Seemingly complete removal of histologically benign intracranial meningioma: late recurrence rate and factors predicting recurrence in 657 patients. A multivariate analysis. *Surg. Neurol.* 1986; 26: 461-469.
20. Barbaro N.M., Gutin P.H., Wilson C.B. i wsp.: Radiation therapy in the treatment of partially resected meningiomas. *Neurosurgery* 1987; 20: 525-528.
21. Taylor B.W. Jr, Marcus R.B. Jr, Friedman W.A. i wsp.: The meningioma controversy: postoperative radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 1988; 15: 299-304.
22. Goldsmith B.J., Wara W.M., Wilson C.B., Larson D.A.: Post-operative irradiation for subtotally resected meningiomas. A retrospective analysis of 140 patients treated from 1967 to 1990. *J. Neurosurg.* 1994; 80: 195-201.
23. Kondziolka D., Lunsford L.D., Coffey R.J., Flickinger J.C.: Stereotactic radiosurgery of meningiomas. *J. Neurosurg.* 1991; 74: 552-559.
24. Duma C.M., Lunsford L.D., Kondziolka D. i wsp.: Stereotactic radiosurgery of cavernous sinus meningiomas as an addition or alternative to microsurgery. *Neurosurgery* 1993; 32: 699-704; discussion 704-705.
25. Gutin P.H., Leibel S.A., Hosobuchi Y. i wsp.: Brachytherapy of recurrent tumors of the skull base and spine with iodine-125 sources. *Neurosurgery* 1987; 20: 938-945.
26. Annegers J.F., Laws E.R. Jr, Kurland L.T. i wsp.: Head trauma and subsequent brain tumors. *Neurosurgery* 1979; 4: 203-206.
27. Longstreth W.T. Jr, Phillips L.E., Drangsholt M. i wsp.: Dental X-rays and the risk of intracranial meningioma: a population-based case-control study. *Cancer* 2004; 100: 1026-1034.
28. Ron E., Modan B., Boice J.D. i wsp.: Tumors of the brain and nervous system after radiotherapy in childhood. *N. Engl. J. Med.* 1988; 319: 1033-1039.
29. Lamszus K.: Meningioma pathology, genetics, and biology. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2004; 63: 275-286.
30. Sanson M., Cornu P.: Biology of meningiomas. *Acta Neurochir. (Wien)* 2000; 142: 493-505.
31. Jhavar B.S., Fuchs C.S., Colditz G.A., Stampfer M.J.: Sex steroid hormone exposures and risk for meningioma. *J. Neurosurg.* 2003; 99: 848-853.
32. Wen P.Y., Quant E., Drappatz J. i wsp.: Medical therapies for meningiomas. *J. Neurooncol.* 2010; 99: 365-378.
33. Black P.M.: Hormones, radiosurgery and virtual reality: new aspects of meningioma management. *Can. J. Neurol. Sci.* 1997; 24: 302-306.
34. Hsu D.W., Efrid J.T., Hedley-Whyte E.T.: Progesterone and estrogen receptors in meningiomas: prognostic considerations. *J. Neurosurg.* 1997; 86: 113-120.
35. Konstantinidou A.E., Korkolopoulou P., Mahera H. i wsp.: Hormone receptors in non-malignant meningiomas correlate with apoptosis, cell proliferation and recurrence-free survival. *Histopathology* 2003; 43: 280-290.
36. Perry A., Cai D.X., Scheithauer B.W. i wsp.: Merlin, *DAL-1*, and progesterone receptor expression in clinicopathologic subsets of meningioma: a correlative immunohistochemical study of 175 cases. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2000; 59: 872-879.
37. Perry A., Gutmann D.H., Reifenberger G.: Molecular pathogenesis of meningiomas. *J. Neurooncol.* 2004; 70: 183-202.
38. Verhagen A., Go K.G., Visser G.M. i wsp.: The presence of progesterone receptors in arachnoid granulations and in the lining of arachnoid cysts: its relevance to expression of progesterone receptors in meningiomas. *Br. J. Neurosurg.* 1995; 9: 47-50.
39. Goodwin J.W., Crowley J., Eyre H.J. i wsp.: A phase II evaluation of tamoxifen in unresectable or refractory meningiomas: a Southwest Oncology Group study. *J. Neurooncol.* 1993; 15: 75-77.
40. Gabos S., Berkel J.: Meta-analysis of progestin and estrogen receptors in human meningiomas. *Neuroepidemiology* 1992; 11: 255-260.
41. Knudson A.G. Jr: Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1971; 68: 820-823.
42. Ferner R.E.: Neurofibromatosis 1 and neurofibromatosis 2: a twenty first century perspective. *Lancet Neurol.* 2007; 6: 340-351.
43. Seizinger B.R., Rouleau G., Lane A.H. i wsp.: DNA linkage analysis in Von Recklinghausen neurofibromatosis. *J. Med. Genet.* 1987; 24: 529-530.
44. De Vitis L.R., Tedde A., Vitelli F. i wsp.: Screening for mutations in the neurofibromatosis type 2 (*NF2*) gene in sporadic meningiomas. *Hum. Genet.* 1996; 97: 632-637.
45. De Vitis L.R., Tedde A., Vitelli F. i wsp.: Analysis of the neurofibromatosis type 2 gene in different human tumors of neuroectodermal origin. *Hum. Genet.* 1996; 97: 638-641.
46. Messerini L., Vitelli F., De Vitis L.R. i wsp.: Microsatellite instability in sporadic mucinous colorectal carcinomas: relationship to clinico-pathological variables. *J. Pathol.* 1997; 182: 380-384.
47. Liu Y., Pang J.C., Dong S. i wsp.: Aberrant CpG island hypermethylation profile is associated with atypical and anaplastic meningiomas. *Hum. Pathol.* 2005; 36: 416-425.
48. Evans J.J., Jeun S.S., Lee J.H. i wsp.: Molecular alterations in the neurofibromatosis type 2 gene and its protein rarely occurring in meningotheial meningiomas. *J. Neurosurg.* 2001; 94: 111-117.
49. Ragel B.T., Jensen R.L.: Aberrant signaling pathways in meningiomas. *J. Neurooncol.* 2010; 99: 315-324.

50. Kros J., de Greve K., van Tilborg A. i wsp.: NF2 status of meningiomas is associated with tumour localization and histology. *J. Pathol.* 2001; 194: 367-372.
51. Lallemand D., Curto M., Saotome I. i wsp.: NF2 deficiency promotes tumorigenesis and metastasis by destabilizing adherens junctions. *Genes Dev.* 2003; 17: 1090-1100.
52. Shaw R.J., Paez J.G., Curto M. i wsp.: The *Nf2* tumor suppressor, merlin, functions in Rac-dependent signaling. *Dev. Cell* 2001; 1: 63-72.
53. McClatchey A.I., Saotome I., Mercer K. i wsp.: Mice heterozygous for a mutation at the *Nf2* tumor suppressor locus develop a range of highly metastatic tumors. *Genes Dev.* 1998; 12: 1121-1133.
54. Gutmann D.H., Hirbe A.C., Haipek C.A.: Functional analysis of neurofibromatosis 2 (*NF2*) missense mutations. *Hum. Mol. Genet.* 2001; 10: 1519-1529.
55. Gutmann D.H., Sherman L., Seftor L. i wsp.: Increased expression of the *NF2* tumor suppressor gene product, merlin, impairs cell motility, adhesion and spreading. *Hum. Mol. Genet.* 1999; 8: 267-275.
56. Ikeda K., Saeki Y., Gonzalez-Agosti C. i wsp.: Inhibition of *NF2*-negative and *NF2*-positive primary human meningioma cell proliferation by overexpression of merlin due to vector-mediated gene transfer. *J. Neurosurg.* 1999; 91: 85-92.
57. Morrison H., Sherman L.S., Legg J. i wsp.: The *NF2* tumor suppressor gene product, merlin, mediates contact inhibition of growth through interactions with CD44. *Genes Dev.* 2001; 15: 968-980.
58. Sherman L., Xu H.M., Geist R.T. i wsp.: Interdomain binding mediates tumor growth suppression by the *NF2* gene product. *Oncogene* 1997; 15: 2505-2509.
59. James M.F., Manchanda N., Gonzalez-Agosti C. i wsp.: The neurofibromatosis 2 protein product merlin selectively binds F-actin but not G-actin, and stabilizes the filaments through a lateral association. *Biochem. J.* 2001; 356: 377-386.
60. Jannatipour M., Dion P., Khan S. i wsp.: Schwannomin isoform-1 interacts with syntenin via PDZ domains. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 33093-33100.
61. Scoles D.R., Huynh D.P., Morcos P.A. i wsp.: Neurofibromatosis 2 tumour suppressor schwannomin interacts with β II-spectrin. *Nat. Genet.* 1998; 18: 354-359.
62. Xu H.M., Gutmann D.H.: Merlin differentially associates with the microtubule and actin cytoskeleton. *J. Neurosci. Res.* 1998; 51: 403-415.
63. Guertin D.A., Sabatini D.M.: Defining the role of mTOR in cancer. *Cancer Cell* 2007; 12: 9-22.
64. James M.F., Han S., Polizzano C. i wsp.: *NF2*/merlin is a novel negative regulator of mTOR complex 1, and activation of mTORC1 is associated with meningioma and schwannoma growth. *Mol. Cell. Biol.* 2009; 29: 4250-4261.
65. Xiao G.H., Gallagher R., Shetler J. i wsp.: The *NF2* tumor suppressor gene product, merlin, inhibits cell proliferation and cell cycle progression by repressing cyclin D1 expression. *Mol. Cell. Biol.* 2005; 25: 2384-2394.
66. Gerber M.A., Bahr S.M., Gutmann D.H.: Protein 4.1B/differentially expressed in adenocarcinoma of the lung-1 functions as a growth suppressor in meningioma cells by activating Rac1-dependent c-Jun-NH₂-kinase signaling. *Cancer Res.* 2006; 66: 5295-5303.
67. Gutmann D.H., Donahoe J., Perry A. i wsp.: Loss of *DAL-1*, a protein 4.1-related tumor suppressor, is an important early event in the pathogenesis of meningiomas. *Hum. Mol. Genet.* 2000; 9: 1495-1500.
68. Nunes F., Shen Y., Niida Y. i wsp.: Inactivation patterns of *NF2* and *DAL-1/4.1B* (*EPB41L3*) in sporadic meningioma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2005; 162: 135-139.
69. Martinez-Glez V., Bello M.J., Franco-Hernandez C. i wsp.: Mutational analysis of the *DAL-1/4.1B* tumour-suppressor gene locus in meningiomas. *Int. J. Mol. Med.* 2005; 16: 771-774.
70. Huang S., Lichtenauer U.D., Pack S. i wsp.: Reassignment of the *EPB4.1* gene to 1p36 and assessment of its involvement in neuroblastomas. *Eur. J. Clin. Invest.* 2001; 31: 907-914.
71. Kino T., Takeshima H., Nakao M. i wsp.: Identification of the *cis*-acting region in the *NF2* gene promoter as a potential target for mutation and methylation-dependent silencing in schwannoma. *Genes Cells* 2001; 6: 441-454.
72. Yu T., Robb V.A., Singh V. i wsp.: The 4.1/ezrin/radixin/moesin domain of the *DAL-1/Protein 4.1B* tumour suppressor interacts with 14-3-3 proteins. *Biochem. J.* 2002; 365: 783-789.
73. Mawrin C., Perry A.: Pathological classification and molecular genetics of meningiomas. *J. Neurooncol.* 2010; 99: 379-391.
74. Fernandez H.A., Kallenbach K., Seghezzi G. i wsp.: Inhibition of endothelial cell migration by gene transfer of tissue inhibitor of metalloproteinases-1. *J. Surg. Res.* 1999; 82: 156-162.
75. Halaka A.N., Bunning R.A., Bird C.C. i wsp.: Production of collagenase and inhibitor (TIMP) by intracranial tumors and *dura in vitro*. *J. Neurosurg.* 1983; 59: 461-466.
76. Mizoue T., Kawamoto H., Arita K. i wsp.: Secretion of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 by meningiomas detected by cell immunoblot analysis. *Acta Neurochir. (Wien)* 1999; 141: 481-486.
77. Paek S.H., Kim D.G., Park C.K. i wsp.: The role of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of matrix metalloproteinase in microcystic meningiomas. *Oncol. Rep.* 2006; 16: 49-56.
78. Barski D., Wolter M., Reifemberger G., Riemenschneider M.J.: Hypermethylation and transcriptional downregulation of the *TIMP3* gene is associated with allelic loss on 22q12.3 and malignancy in meningiomas. *Brain Pathol.* 2010; 20: 623-631.
79. Boström J., Meyer-Puttitz B., Wolter M. i wsp.: Alterations of the tumor suppressor genes *CDKN2A* (*p16^{INK4a}*), *p14^{ARF}*, *CDKN2B* (*p15^{INK4b}*), and *CDKN2C* (*p18^{INK4c}*) in atypical and anaplastic meningiomas. *Am. J. Pathol.* 2001; 159: 661-669.
80. Goutagny S., Yang H.W., Zucman-Rossi J. i wsp.: Genomic profiling reveals alternative genetic pathways of meningioma malignant progression dependent on the underlying *NF2* status. *Clin. Cancer Res.* 2010; 16: 4155-4164.
81. Jagannathan J., Oskouian R.J., Yeoh H.K. i wsp.: Molecular biology of unresectable meningiomas: implications for new treatments and review of the literature. *Skull Base* 2008; 18: 173-187.
82. Lusic E.A., Watson M.A., Chicoine M.R. i wsp.: Integrative genomic analysis identifies *NDRG2* as a candidate tumor suppressor gene frequently inactivated in clinically aggressive meningioma. *Cancer Res.* 2005; 65: 7121-7126.
83. Skiriute D., Tamasauskas S., Asmoniene V. i wsp.: Tumor grade-related *NDRG2* gene expression in primary and recurrent intracranial meningiomas. *J. Neurooncol.* 2010; 102: 89-94.
84. Chamberlain M.C., Tsao-Wei D.D., Groshen S.: Temozolomide for treatment-resistant recurrent meningioma. *Neurology* 2004; 62: 1210-1212.
85. Lopez-Gines C., Cerda-Nicolas M., Gil-Benso R. i wsp.: Association of loss of 1p and alterations of chromosome 14 in meningioma progression. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2004; 148: 123-128.
86. Lusic E., Gutmann D.H.: Meningioma: an update. *Curr. Opin. Neurol.* 2004; 17: 687-692.
87. Mathiesen T., Kihlström L., Karlsson B., Lindquist C.: Potential complications following radiotherapy for meningiomas. *Surg. Neurol.* 2003; 60: 193-200.
88. Sulman E.P., White P.S., Brodeur G.M.: Genomic annotation of the meningioma tumor suppressor locus on chromosome 1p34. *Oncogene* 2004; 23: 1014-1020.

89. Cai D.X., Banerjee R., Scheithauer B.W. i wsp.: Chromosome 1p and 14q FISH analysis in clinicopathologic subsets of meningioma: diagnostic and prognostic implications. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2001; 60: 628-636.
90. Lewis T.S., Shapiro P.S., Ahn N.G.: Signal transduction through MAP kinase cascades. *Adv. Cancer Res.* 1998; 74: 49-139.
91. Menon A.G., Rutter J.L., von Sattel J.P. i wsp.: Frequent loss of chromosome 14 in atypical and malignant meningioma: identification of a putative 'tumor progression' locus. *Oncogene* 1997; 14: 611-616.
92. Simon M., von Deimling A., Larson J.J. i wsp.: Allelic losses on chromosomes 14, 10, and 1 in atypical and malignant meningiomas: a genetic model of meningioma progression. *Cancer Res.* 1995; 55: 4696-4701.
93. Tse J.Y., Ng H.K., Lau K.M. i wsp.: Loss of heterozygosity of chromosome 14q in low- and highgrade meningiomas. *Hum. Pathol.* 1997; 28: 779-785.
94. Weber R.G., Boström J., Wolter M. i wsp.: Analysis of genomic alterations in benign, atypical, and anaplastic meningiomas: toward a genetic model of meningioma progression. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1997; 94: 14719-14724.
95. Maillo A., Orfao A., Sayagues J.M. i wsp.: 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: 3285-3295.
96. Peyrard M., Fransson I., Xie Y.G. i wsp.: Characterization of a new member of the human betaadaplin gene family from chromosome 22q12, a candidate meningioma gene. *Hum. Mol. Genet.* 1994; 3: 1393-1399.
97. Hankins G.R., Sasaki T., Lieu A.S. i wsp.: Identification of the deleted in liver cancer 1 gene, *DLCL1*, as a candidate meningioma tumor suppressor. *Neurosurgery* 2008; 63: 771-781.
98. Ragel B.T., Jensen R.L.: Molecular genetics of meningiomas. *Neurosurg. Focus* 2005; 19: E9.
99. Maxwell M., Galanopoulos T., Hedley-Whyte E.T. i wsp.: Human meningiomas co-express platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF-receptor genes and their protein products. *Int. J. Cancer* 1990; 46: 16-21.
100. Kazumoto K., Tamura M., Hoshino H., Yuasa Y.: Enhanced expression of the *sis* and *c-myc* oncogenes in human meningiomas. *J. Neurosurg.* 1990; 72: 786-791.
101. Tanaka K., Sato C., Maeda Y. i wsp.: Establishment of a human malignant meningioma cell line with amplified *c-myc* oncogene. *Cancer* 1989; 64: 2243-2249.
102. Detta A., Kenny B.G., Smith C. i wsp.: Correlation of proto-oncogene expression and proliferation and meningiomas. *Neurosurgery* 1993; 33: 1065-1074.
103. Carstens C., Messe E., Zang K.D., Blin N.: Human *KRAS* oncogene expression in meningioma. *Cancer Lett.* 1988; 43: 37-41.
104. Diedrich U., Eckermann O., Schmidtke J.: Rare *Ha-ras* and *cmos* alleles in patients with intracranial tumors. *Neurology* 1988; 38: 587-589.
105. Abramovich C.M., Prayson R.A.: Apoptotic activity and *bcl-2* immunoreactivity in meningiomas. Association with grade and outcome. *Am. J. Clin. Pathol.* 2000; 114: 84-92.
106. Nozaki M., Tada M., Kashiwazaki H. i wsp.: p73 is not mutated in meningiomas as determined with a functional yeast assay but p73 expression increases with tumor grade. *Brain Pathol.* 2001; 11: 296-305.
107. Zhang M.X., Zhao X., Wang Z.G. i wsp.: Constitutive activation of signal transducer and activator of transcription 3 regulates expression of vascular endothelial growth factor in human meningioma differentiation. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2010; 136: 981-988.
108. Ferrara N., Gerber H.P., LeCouter J.: The biology of VEGF and its receptors. *Nat. Med.* 2003; 9: 669-676.
109. Willert K., Brown J.D., Danenberg E. i wsp.: Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors. *Nature* 2003; 423: 448-452.
110. Laurendeau I., Ferrer M., Garrido D. i wsp.: Gene expression profiling of the hedgehog signaling pathway in human meningiomas. *Mol. Med.* 2010; 16: 262-270.
111. Varjosalo M., Taipale J.: Hedgehog: functions and mechanisms. *Genes Dev.* 2008; 22: 2454-2472.
112. Xie J., Johnson R.L., Zhang X. i wsp.: Mutations of the *PATCHED* gene in several types of sporadic extracutaneous tumors. *Cancer Res.* 1997; 57: 2369-2372.
113. Trofatter J.A., MacCollin M.M., Rutter J.L. i wsp.: A novel moesin-, ezrin-, radixin-like gene is a candidate for the neurofibromatosis 2 tumor suppressor. *Cell* 1993; 72: 791-800.
114. Pečina-Slaus N., Nikuseva Martić T., Deak A.J. i wsp.: Genetic and protein changes of E-cadherin in meningiomas. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2010; 136: 695-702.
115. Schweddeheimer K., Zhou L., Birchmeier W.: E-Cadherin in human brain tumours: loss of immunoreactivity in malignant meningiomas. *Virchows Arch.* 1998; 432: 163-167.
116. Zhou K., Wang G., Wang Y. i wsp.: The potential involvement of E-cadherin and beta-catenins in meningioma. *PLoS One* 2010; 5: e11231.
117. Harada T., Irving R.M., Xuereb J.H. i wsp.: Molecular genetic investigation of the neurofibromatosis type 2 tumor suppressor gene in sporadic meningioma. *J. Neurosurg.* 1996; 84: 847-851.
118. Kaartinen V., Gonzalez-Gomez I., Voncken J.W. i wsp.: Abnormal function of astroglia lacking *Abr* and *Bcr* RacGAPs. *Development* 2001; 128: 4217-4227.
119. Ress A., Moelling K.: *Bcr* is a negative regulator of the Wnt signalling pathway. *EMBO Rep.* 2005; 6: 1095-1100.
120. Wozniak K., Piaskowski S., Gresner S.M. i wsp.: *BCR* expression is decreased in meningiomas showing loss of heterozygosity of 22q within a new minimal deletion region. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2008; 183: 14-20.
121. Pérez-Magán E., Rodríguez de Lope A., Ribalta T. i wsp.: Differential expression profiling analyses identifies downregulation of 1p, 6q, and 14q genes and overexpression of 6p histone cluster 1 genes as markers of recurrence in meningiomas. *Neuro. Oncol.* 2010; 12: 1278-1290.
122. Baia G.S., Stifani S., Kimura E.T. i wsp.: Notch activation is associated with tetraploidy and enhanced chromosomal instability in meningiomas. *Neoplasia* 2008; 10: 604-612.
123. Kopan R.: Notch: a membrane-bound transcription factor. *J. Cell Sci.* 2002; 115: 1095-1097.
124. Iso T., Kedes L., Hamamori Y.: HES and HERP families: multiple effectors of the Notch signaling pathway. *J. Cell Physiol.* 2003; 194: 237-255.
125. Mawrin C., Sasse T., Kirches E. i wsp.: Different activation of mitogen-activated protein kinase and Akt signaling is associated with aggressive phenotype of human meningiomas. *Clin. Cancer Res.* 2005; 11: 4074-4082.
126. Johnson M.D., Woodard A., Kim P., Frexes-Steed M.: Evidence for mitogen-associated protein kinase activation and transduction of mitogenic signals by platelet-derived growth factor in human meningioma cells. *J. Neurosurg.* 2001; 94: 293-300.
127. Johnson M.D., Woodard A., Okediji E.J. i wsp.: Lovastatin is a potent inhibitor of meningioma cell proliferation: evidence for inhibition of a mitogen associated protein kinase. *J. Neurooncol.* 2002; 56: 133-142.
128. Seger R., Krebs E.G.: The MAPK signaling cascade. *FASEB J.* 1995; 9: 726-735.
129. Johnson M.D., Okediji E., Woodard A.: Transforming growth factor-beta effects on meningioma cell proliferation and signal transduction pathways. *J. Neurooncol.* 2004; 66: 9-16.

130. Wrobel G., Roerig P., Kokocinski F. i wsp.: Microarray-based gene expression profiling of benign, atypical and anaplastic meningiomas identifies novel genes associated with meningioma progression. *Int. J. Cancer* 2005; 114: 249-256.
131. Yang S.Y., Xu G.M.: Expression of PDGF and its receptor as well as their relationship to proliferating activity and apoptosis of meningiomas in human meningiomas. *J. Clin. Neurosci.* 2001; 8 (supl. 1): 49-53.
132. Torp S.H., Helseth E., Dalen A., Unsgaard G.: Expression of epidermal growth factor receptor in human meningiomas and meningeal tissue. *APMIS* 1992; 100: 797-802.
133. Carroll R.S., Black P.M., Zhang J. i wsp.: Expression and activation of epidermal growth factor receptors in meningiomas. *J. Neurosurg.* 1997; 87: 315-323.
134. Halper J., Jung C., Perry A. i wsp.: Expression of TGF α in meningiomas. *J. Neurooncol.* 1999; 45: 127-134.
135. Loussouarn D., Brunon J., Avet-Loiseau H. i wsp.: Prognostic value of HER2 expression in meningiomas: an immunohistochemical and fluorescence in situ hybridization study. *Hum. Pathol.* 2006; 37: 415-421.
136. Bitzer M., Wöckel L., Luft A.R. i wsp.: The importance of pial blood supply to the development of peritumoral brain edema in meningiomas. *J. Neurosurg.* 1997; 87: 368-373.
137. Samoto K., Ikezaki K., Ono M. i wsp.: Expression of vascular endothelial growth factor and its possible relation with neovascularization in human brain tumors. *Cancer Res.* 1995; 55: 1189-1193.
138. Lamszus K., Lengler U., Schmidt N.O. i wsp.: Vascular endothelial growth factor, hepatocyte growth factor/scatter factor, basic fibroblast growth factor, and placenta growth factor in human meningiomas and their relation to angiogenesis and malignancy. *Neurosurgery* 2000; 46: 938-948.
139. Yamasaki F., Yoshioka H., Hama S. i wsp.: Recurrence of meningiomas. *Cancer* 2000; 89: 1102-1110.
140. Choy W., Kim W., Nagasawa D. i wsp.: The molecular genetics and tumor pathogenesis of meningiomas and the future directions of meningioma treatments. *Neurosurg. Focus* 2011; 30: E6.
141. Nathoo N., Barnett G.H., Golubic M.: The eicosanoid cascade: possible role in gliomas and meningiomas. *J. Clin. Pathol.* 2004; 57: 6-13.
142. Ragel B.T., Jensen R.L., Couldwell W.T.: Inflammatory response and meningioma tumorigenesis and the effect of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Neurosurg. Focus* 2007; 23: E7.
143. Simon M., Park T.W., Leuenroth S. i wsp.: Telomerase activity and expression of the telomerase catalytic subunit, hTERT, in meningioma progression. *J. Neurosurg.* 2000; 92: 832-840.
144. Langford L.A., Piatyszek M.A., Xu R. i wsp.: Telomerase activity in ordinary meningiomas predicts poor outcome. *Hum. Pathol.* 1997; 28: 416-420.
145. López-Ginés C., Gil-Benso R., Collado-Díaz M. i wsp.: Meningioma: a model of cytogenetic evolution in tumoral initiation and progression. *Neurocirugia (Astur.)* 2003; 14: 517-525.
146. Zang K.D.: Meningioma: a cytogenetic model of a complex benign human tumor, including data on 394 karyotyped cases. *Cytogenet. Cell Genet.* 2001; 93: 207-220.
147. Büschges R., Ichimura K., Weber R.G. i wsp.: Allelic gain and amplification on the long arm of chromosome 17 in anaplastic meningiomas. *Brain Pathol.* 2002; 12: 145-153.
148. Al-Mefty O., Kadri P.A., Pravdenkova S. i wsp.: Malignant progression in meningioma: documentation of a series and analysis of cytogenetic findings. *J. Neurosurg.* 2004; 101: 210-218.
149. McClatchey A.I., Giovannini M.: Membrane organization and tumorigenesis – the *NF2* tumor suppressor, Merlin. *Genes Dev.* 2005; 19: 2265-2277.
150. Lomas J., Bello M.J., Arjona D. i wsp.: Analysis of p73 gene in meningiomas with deletion at 1p. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2001; 129: 88-91.
151. Zhang X., Gejman R., Mahta A. i wsp.: *Maternally expressed gene 3*, an imprinted noncoding RNA gene, is associated with meningioma pathogenesis and progression. *Cancer Res.* 2010; 70: 2350-2358.
152. Peters N., Wellenreuther R., Rollbrocker B. i wsp.: Analysis of the *PTEN* gene in human meningiomas. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 1998; 24: 3-8.
153. von Deimling A., Fimmers R., Schmidt M.C. i wsp.: Comprehensive allelotyping and genetic analysis of 466 human nervous system tumors. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2000; 59: 544-558.
154. Mihaila D., Gutiérrez J.A., Rosenblum M.L. i wsp.: Meningiomas: analysis of loss of heterozygosity on chromosome 10 in tumor progression and the delineation of four regions of chromosomal deletion in common with other cancers. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9: 4435-4442.
155. Mihaila D., Jankowski M., Gutiérrez J.A. i wsp.: Meningiomas: loss of heterozygosity on chromosome 10 and marker-specific correlations with grade, recurrence, and survival. *Clin. Cancer Res.* 2003; 9: 4443-4451.
156. Büschges R., Boström J., Wolter M. i wsp.: Analysis of human meningiomas for aberrations of the *MADH2*, *MADH4*, *APM-1* and *DCC* tumor suppressor genes on the long arm of chromosome 18. *Int. J. Cancer* 2001; 92: 551-554.
157. Bauman G., Pahapill P., Macdonald D. i wsp.: Low grade glioma: a measuring radiographic response to radiotherapy. *Can. J. Neurol. Sci.* 1999; 26: 18-22.
158. Louis D.N., Ohgaki H., Wiestler O.D. i wsp.: The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol. (Berl.)* 2007; 114: 97-109.
159. James C.D., Carlom E., Nordenskjöld M. i wsp.: Mitotic recombination of chromosome 17 in astrocytomas. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1989; 86: 2858-2862.
160. Reifenberger G., Louis D.N.: Oligodendroglioma: toward molecular definitions in diagnostic neuro-oncology. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2003; 62: 111-126.
161. Smith J.S., Alderete B., Minn Y. i wsp.: Localization of common deletion regions on 1p and 19q in human gliomas and their association with histological subtype. *Oncogene* 1999; 18: 4144-4152.
162. Nigro J.M., Takahashi M.A., Ginzinger D.G. i wsp.: Detection of 1p and 19q loss in oligodendroglioma by quantitative microsatellite analysis, a real-time quantitative polymerase chain reaction assay. *Am. J. Pathol.* 2001; 158: 1253-1262.
163. Alexiou G.A., Markoula S., Gogou P., Kyritsis A.P.: Genetic and molecular alterations in meningiomas. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 2011; 113: 261-267.
164. Korhonen K., Salminen T., Raitanen J. i wsp.: Female predominance in meningiomas can not be explained by differences in progesterone, estrogen, or androgen receptor expression. *J. Neurooncol.* 2006; 80: 1-7.
165. Servo A., Porras M., Jääskeläinen J. i wsp.: Computed tomography and angiography do not reliably discriminate malignant meningiomas from benign ones. *Neuroradiology* 1990; 32: 94-97.